

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOFIT DARI RIMPANG
TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza*) SEBAGAI PENGHASIL SENYAWA
ANTIBAKTERI TERHADAP *Propionibacterium acnes***

SKRIPSI

**Oleh:
APRILIA DWI FATIMAH
NIM. 200602110116**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2024**

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOFIT DARI RIMPANG
TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza*) SEBAGAI PENGHASIL SENYAWA
ANTIBAKTERI TERHADAP *Propionibacterium acnes***

SKRIPSI

**Oleh:
APRILIA DWI FATIMAH
NIM. 200602110116**

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2024**

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOFIT DARI RIMPANG
TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza*) SEBAGAI PENGHASIL SENYAWA
ANTIBAKTERI TERHADAP *Propionibacterium acnes***

SKRIPSI

Oleh:
APRILIA DWI FATIMAH
NIM. 200602110116

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji

tanggal: 11 Juni 2024

Dosen Pembimbing I



Ir. Liliek Harianie A.R., M.P.
NIP. 19620901 199803 2 001

Dosen Pembimbing II



Kivah Aha Putra, M.Pd.I.
NIP. 199004252 0180201 1 234

Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi
UIN Maulana Malik Ibrahim Malang



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P.
NIP. 1974018 200312 2 002

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOFIT DARI RIMPANG
TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza*) SEBAGAI PENGHASIL SENYAWA
ANTIBAKTERI TERHADAP *Propionibacterium acnes***

SKRIPSI

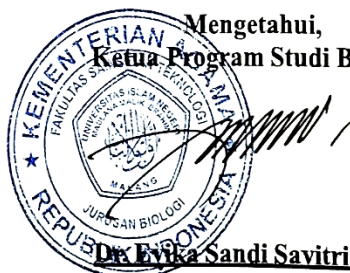
Oleh:
APRILIA DWI FATIMAH
NIM. 200602110116

telah dipertahankan di depan Dewan Penguji Skripsi dan
dinyatakan diterima sebagai salah satu persyaratan untuk
memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 11 Juni 2024

Penguji Utama	: Prof. Dr. Ulfah Utami, M.Si. NIP. 19650509 199903 2 002
Ketua Penguji	: Tyas Nyonita Punjungsari, M.Sc. NIP. 19920507 201903 2 026
Sekretaris Penguji	: Ir. Liliek Harianie A.R., M.P. NIP. 19620901 199803 2 001
Anggota Penguji	: Kivah Aha Putra, M.Pd.I. NIP. 19900425 202321 1 024

(.....)
(.....)
(.....)
(.....)

Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi


Dr. Evika Sandi Savitri, M.P.
NIP. 19741018 200312 2 002

HALAMAN PERSEMBAHAN

Segala puji bagi Allah SWT atas rahmat-Nya dan ridha-Nya skripsi ini dapat diselesaikan. Skripsi ini dipersembahkan kepada seluruh pihak yang telah berkontribusi dan memberi dukungan kepada penulis, khususnya:

1. Orang tua tercinta Bapak Tofik Nurhidayat dan Ibu Kadarwati, Kakak Wahyu Hidayat, bude Sri Hastuti yang senantiasa memberikan dukungan, semangat dan do'a, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan lancar. Semoga Allah senantiasa melindungi.
2. Ir. Liliek Harianie A.R., M.P., selaku dosen pembimbing utama yang telah membantu memberikan bimbingan dan arahan selama menyusun skripsi
3. Kivah Aha Putra, M.Pd.I., selaku dosen pembimbing agama yang telah memberikan bimbingan mengenai integrasi sains dan Islam dalam menyusun skripsi
4. Prilya Dewi Fitriasaki, M.Sc., selaku kepala laboratorium Mikrobiologi yang senantiasa memberikan pengarahan kepada penulis selama penelitian
5. Retno Novitasari, M.Sc., selaku laboran Mikrobiologi yang senantiasa menemani dan membimbing penulis selama kegiatan penelitian
6. Rekan peneliti Mikrobiologi Venya Nabila, Rohmah Zulfa, dan Amalia Rahma yang selalu berproses bersama penulis selama masa penelitian
7. Rekan seperjuangan Faizah Erica dan Alima Fadhillah yang selalu memberi dukungan baik dalam dukungan mental maupun do'a
8. Angkatan BIOGENC 2020 khususnya kelas biologi C (CYTOSINE) yang telah memberikan semangat kepada penulis hingga mampu menyelesaikan studi dengan baik.

Malang, 07 Juni 2024

Penulis

MOTTO

“Allah tidak menjanjikan bahwa hidup ini mudah, tetapi Allah berjanji bersama kesulitan ada kemudahan”

PERNYATAAN KEASLIAN PENULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Aprilia Dwi Fatimah

NIM : 200602110116

Program Studi : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit dari Rimpang
Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) sebagai Penghasil
Senyawa Antibakteri Terhadap *Propionibacterium acnes*

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-banar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi akademik maupun hukum atas perbuatan tersebut.

Malang, 07 Juni 2024
Yang membuat pernyataan,



Aprilia Dwi Fatimah
NIM. 200602110116

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar Pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.

Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit dari Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) Sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri Terhadap *Propionibacterium acnes*

Aprilia Dwi Fatimah, Liliek Harianie A.R., Kivah Aha Putra

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana
Malik Ibrahim Malang

ABSTRAK

Temulawak adalah salah satu tanaman dapat digunakan sebagai obat anti jerawat karena membantu meredakan jerawat yang diakibatkan bakteri patogen. Terdapat banyak faktor yang dapat menyebabkan jerawat salah satunya diakibatkan infeksi bakteri. Peradangan pada jerawat dapat akibatkan oleh bakteri seperti *Propionibacterium acnes*. Bakteri endofit adalah mikroorganisme yang hidup di dalam jaringan tanaman tanpa menimbulkan gejala penyakit pada inangnya, dan dapat diisolasi. Bakteri endofit mampu menghasilkan senyawa bioaktif, salah satunya sebagai antimikroba. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis bakteri endofit diisolasi dari rimpang temulawak dan memperoleh isolat bakteri dari rimpang temulawak yang memiliki kemampuan menghasilkan antibakteri *Propionibacterium acnes*. Jenis penelitian ini termasuk eksploratif dengan metode analisis secara deskriptif kualitatif dan kuantitatif. Identifikasi bakteri endofit dilakukan dengan pengamatan makroskopis meliputi bentuk, elevasi, tepi, dan warna koloni, kemudian pengamatan mikroskopis dengan pewarnaan Gram. Setelah itu, isolat bakteri diujikan terhadap bakteri penyebab jerawat yaitu *Propionibacterium acnes*. Isolat yang dapat menghambat bakteri uji dilanjutkan dengan uji fitokimia, uji KHM serta KBM, dan identifikasi dengan MALDI-TOF MS. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif kualitatif dan kuantitatif. Hasil dari penelitian ini didapatkan sebanyak 7 isolat bakteri endofit. Hasil dari uji antibakteri terdapat 1 isolat yang dapat menghambat bakteri *P. acnes* dengan kategori lemah (IST I 1), dan 2 isolat menghambat dengan kategori sedang yaitu ISTL I 1 dan IST II 3. Hasil uji fitokimia pada isolat ISTL I 1 dan IST II 3 bahwa terdapat kandungan flavonoid, alkaloid, dan saponin. Pada hasil KHM konsentrasi 6,25% isolat bakteri endofit mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji, sedangkan hasil KBM menunjukkan isolat bakteri endofit tidak dapat membunuh bakteri uji. Hasil identifikasi MALDI-TOF MS terkait spesies bahwa ISTL I memiliki hasil kemiripan sebesar 99.9% dengan *Bacillus cereus*, sedangkan IST II 3 memiliki kemiripan dengan spesies *Enterobacter cloacae* sebesar 50.0%.

Kata kunci: Bakteri endofit, identifikasi, isolasi, temulawak

Isolation and Identification of Endophytic Bacteria from Temulawak Rhizomes (*Curcuma xanthorrhiza*) as Producers of Antibacterial Compounds Against *Propionibacterium acnes*

Aprilia Dwi Fatimah, Liliek Harianie A.R., Kivah Aha Putra

Biology Study Program, Faculty of Science and Technology, State Islamic University Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRACT

Temulawak is a plant that can be used as an anti-acne medication because it helps to alleviate acne caused by pathogenic bacteria. There are many factors that can cause acne, one of which is bacterial infection. Inflammation in acne can be caused by bacteria such as *Propionibacterium acnes*. Endophytic bacteria are microorganisms that live within plant tissues without causing disease symptoms in their host and can be isolated. Endophytic bacteria are capable of producing bioactive compounds, one of which acts as an antimicrobial. This study aims to identify the types of endophytic bacteria isolated from temulawak rhizomes and to obtain bacterial isolates from temulawak rhizomes that have the ability to produce antibacterial compounds against *Propionibacterium acnes*. This type of research is exploratory with qualitative and quantitative descriptive analysis methods. Identification of endophytic bacteria is conducted through macroscopic observation including the shape, elevation, margin, and color of the colony, followed by microscopic observation with Gram staining. Subsequently, the bacterial isolates are tested against acne-causing bacteria, namely *Propionibacterium acnes*. Isolates that can inhibit the test bacteria are further subjected to phytochemical testing, Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) tests, and identification with MALDI-TOF MS. The obtained data are analyzed descriptively in both qualitative and quantitative manners. The results of this study found seven endophytic bacterial isolates. The antibacterial test results showed that one isolate could inhibit *P. acnes* with a weak category (IST I 1), and two isolates inhibited with a moderate category, namely ISTL I 1 and IST II 3. The phytochemical test results on isolates ISTL I 1 and IST II 3 revealed the presence of flavonoids, alkaloids, and saponins. In the MIC test, a concentration of 6.25% of the endophytic bacterial isolate was able to inhibit the growth of the test bacteria, whereas the MBC test results indicated that the endophytic bacterial isolate could not kill the test bacteria. MALDI-TOF MS identification results related to species showed that ISTL I had a 99.9% similarity with *Bacillus cereus*, while IST II 3 had a 50.0% similarity with *Enterobacter cloacae*.

Keywords: *Endophytic bacteria, identification, isolation, temulawak*

كُمُنْتَجٍ لمركبات (*Curcuma xanthorrhiza*) عزل وتحديد بكتيريا الإندوفيت من جذور التيمولاواك *Propionibacterium acnes* مضادة للبكتيريا ضد

أبريليا دوي فاطمة، ليليك هارياني، أ.ر.، كيفاه آها بوترا

برنامج دراسة علم الأحياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية في
مالانغ

ملخص البحث

تمولاواك هو نبات يمكن استخدامه كدواء مضاد لحب الشباب لأنه يساعد في تخفيف حب الشباب الناتج عن البكتيريا الممرضة. هناك العديد من العوامل التي يمكن أن تسبب حب الشباب، أحدها هو العدوى البكتيرية. يمكن أن يتسبب البكتيريا الداخلية هي كائنات دقيقة تعيش داخل *Propionibacterium acnes* التهاب حب الشباب في بكتيريا مثل أنسجة النباتات دون أن تسبب أعراض المرض في مضيفها ويمكن عزلها. البكتيريا الداخلية قادرة على إنتاج مركبات نشطة بيولوجياً، إحداها تعمل كمضاد للميكروبات. تهدف هذه الدراسة إلى تحديد أنواع البكتيريا الداخلية المعزولة من جذور التيمولاواك والحصول على عزلات بكتيرية من جذور التيمولاواك التي لها القدرة على إنتاج مضادات بكتيريا نوع هذا البحث استكشافي مع طرق تحليل وصفية نوعية وكمية. يتم تحديد *Propionibacterium acnes* ضد البكتيريا الداخلية من خلال الملاحظة الماكروسكوبية بما في ذلك الشكل والارتفاع والهامش ولون المستعمرة، تليها الملاحظة المجهرية مع صبغ الجرام. بعد ذلك، يتم اختبار العزلات البكتيرية ضد البكتيريا المسببة لحب الشباب، وهي العزلات التي يمكن أن تثبط البكتيريا الاختبارية يتم اختبارها بشكل إضافي من خلال *Propionibacterium acnes*، (MBC) والتركيز القاتل الأدنى (MIC) الاختبارات الكيميائية النباتية، واختبارات الحد الأدنى من التركيز المثبط. يتم تحليل البيانات التي تم الحصول عليها وصفاً بطريقة نوعية وكمية. MALDI-TOF MS والتحديد باستخدام نتائج هذه الدراسة أظهرت سبعة عزلات بكتيرية داخلية. أظهرت نتائج اختبار مضادات البكتيريا أن عزل واحد يمكن أن تثبط ISTL I 1 و ISTL I 3 و عزلتان تثبطان بفئة متوسطة، وهما، (IST I 1) بفئة ضعيفة *P. acnes* أن تثبط وجود الفلافونويدات، والقلويدات ISTL I 1 و ISTL I 3 نتائج الاختبارات الكيميائية النباتية على العزلات كان تركيز 6.25% من العزلات البكتيرية الداخلية قادراً على تثبيط نمو البكتيريا، MIC والصابونين. في اختبار أن العزلات البكتيرية الداخلية لم تستطع قتل البكتيريا الاختبارية. أظهرت MBC الاختبارية، بينما أظهرت نتائج اختبار *Bacillus cereus*، لديه تشابه بنسبة 99.9% مع ISTL I المتعلقة بالأنواع أن MALDI-TOF MS نتائج تحديد *Enterobacter cloacae* لديه تشابه بنسبة 50.0% مع ISTL I 3 بينما

الكلمات المفتاحية: البكتيريا الإندوفيتية، تحديد الهوية، العزل، تيمولاواك

KATA PENGANTAR

Assalamu 'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Bismillahirrohmaanirrohiim, segala puji bagi Allah SWT atas segala ridho-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi. Penulis memahami tanpa bantuan do'a, bimbingan dari semua pihak yang terlibat akan sulit untuk menyelesaikannya. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada semua pihak yang terlibat dan telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini, khususnya kepada :

1. Prof. Dr. Zainuddin, M.A., selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
2. Prof. Dr. Sri Harini, M.Si., selaku Dekan Fakultas Sains & Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.Si., selaku Ketua Prodi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
4. Ir. Liliek Harianie AR, M.P., selaku dosen pembimbing I yang telah membantu memberikan bimbingan dan arahan selama menyusun skripsi
5. Kivah Aha Putra, M.Pd.I., selaku dosen pembimbing agama yang telah memberikan bimbingan dalam menyusun skripsi
6. Prof. Dr. Ulfah Utami, M.Si., selaku penguji utama yang telah memberikan saran dalam penyusunan skripsi
7. Tyas Nyonita Punjungsari, M.Sc., selaku penguji II yang juga telah memberikan saran dalam penyusunan skripsi
8. Maharani Retna Duhita, M.Sc., PhD. Med.Sc., selaku dosen wali, yang telah membimbing dan memberikan masukan sehingga penulis dapat menyelesaikan studi dengan baik.
9. Segenap sivitas akademika Jurusan Biologi, seluruh dosen, staf administrasi, terimakasih untuk segala bantuan hingga skripsi ini terselesaikan.

Semoga penelitian ini dapat memberikan manfaat bagi penulis dan pembaca. Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini, oleh karena itu kritik dan saran yang membangun sangat diperlukan, sehingga dapat bermanfaat bagi penulis sendiri dan pembaca.

Wassalamu 'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Malang, 07 Juni 2024

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
MOTTO.....	v
PERNYATAAN KEASLIAN PENULISAN.....	vi
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI.....	vii
HALAMAN PEDOMAN.....	vii
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT.....	ix
ملخص البحث.....	x
KATA PENGANTAR.....	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan.....	7
1.4 Manfaat.....	7
1.5 Batasan Masalah.....	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	9
2.1 Tanaman Temulawak.....	9
2.1.1 Morfologi Temulawak dan Klasifikasinya.....	9
2.1.2 Tempat Pertumbuhan Temulawak.....	11
2.1.3 Kandungan dan Manfaat Temulawak.....	12
2.2 Isolasi Bakteri.....	14
2.3 Identifikasi Bakteri	14
2.3.1 Identifikasi Makroskopis Bakteri.....	15
2.3.2 Identifikasi Mikroskopis Bakteri.....	16
2.3.3 Identifikasi MALDI-TOF MS.....	19
2.4 Bakteri Endofit	23
2.4.1 Pengertian Bakteri Endofit.....	23
2.4.2 Potensi Bakteri Endofit	26
2.5 Antibakteri	27
2.6 Jerawat.....	28
2.7 Bakteri <i>Propionibacterium acnes</i>	32
2.8 Kurva Pertumbuhan Bakteri	33
BAB III METODE PENELITIAN	36
3.1 Rancangan Penelitian	36
3.2 Waktu dan Tempat	36
3.3 Variabel Penelitian.....	36
3.3.1 Variabel Bebas.....	36

3.3.2	Variabel Terikat	37
3.3.3	Variabel Kontrol	37
3.4	Alat dan Bahan Penelitian	37
3.4.1	Alat Penelitian	37
3.4.2	Bahan Penelitian.....	37
3.5	Prosedur penelitian	38
3.5.1	Sterilisasi Alat	38
3.5.2	Pembuatan Media.....	38
3.5.2.1	Pembuatan Media Nutrient Agar (NA)	38
3.5.2.2	Pembuatan Media Nutrient Broth (NB)	38
3.5.2.3	Pembuatan Media Mueller Hinton Agar (MHA)	39
3.5.2.4	Pembuatan Media Mueller Hinton Broth (MHB)	39
3.5.3	Isolasi Bakteri Endofit dari Rimpang Temulawak	40
3.5.4	Identifikasi Bakteri Endofit Makroskopis dan Mikroskopis.....	40
3.5.5	Ekstraksi Isolat Bakteri Endofit.....	41
3.5.6	Peremajaan Bakteri <i>Propionibacterium acnes</i>	42
3.5.7	Uji Aktivitas Daya Hambat Bakteri <i>Propionibacterium acnes</i>	42
3.5.8	Pengukuran Zona Hambat.....	43
3.5.9	Uji Fitokimia	44
3.5.10	Uji Konsentrasi Hambat Minimum dan Bunuh Minimum	45
3.5.11	Identifikasi MALDI-TOF MS.....	45
3.5.12	Analisis Data	46
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	47
4.1	Hasil Karakter Morfologi Makroskopis dan Mikroskopis Isolat Bakteri Endofit dari Rimpang Temulawak.....	47
4.2	Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Endofit dari Rimpang Temulawak Terhadap Bakteri <i>Propionibacterium acnes</i>	50
4.2.1	Kurva Pertumbuhan Bakteri.....	50
4.2.2	Aktivitas Daya Hambat Terhadap <i>Propionibacterium acnes</i>	51
4.2.3	Hasil Uji Aktivitas Konsentrasi Hambat dan Bunuh dari Bakteri Endofit terhadap <i>Propionibacterium acnes</i>	60
4.3	Hasil Identifikasi Spesies Bakteri Endofit Rimpang Temulawak yang Mampu Menghambat Bakteri <i>Propionibacterium acnes</i>	66
4.3.1	<i>Bacillus cereus</i>	67
4.3.2	<i>Enterobacter cloacae</i>	68
BAB V	PENUTUP	71
5.1	Kesimpulan.....	71
5.2	Saran	72
DAFTAR PUSTAKA.....		73
LAMPIRAN.....		83

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 3.1 Kategori Daya Hambat Antimikroba.....	43
Tabel 4.1 Pengamatan Makroskopik Bakteri Endofit	48
Tabel 4.2 Pengamatan Mikroskopik Bakteri Endofit.....	49
Tabel 4.3 Hasil Uji Aktivitas Daya Hambat.....	51
Tabel 4.4 Hasil Uji Fitokimia.....	55
Tabel 4.5 Hasil Pengamatan KHM dengan Microplate 96-Wells	61
Tabel 4.6 Hasil Pengamatan KBM pada Bakteri <i>P. acnes</i>	63
Tabel 4.7 Hasil Identifikasi Isolat Bakteri Endofit dengan MALDI-TOF MS	67

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2.1. Morfologi Temulawak.....	10
Gambar 2.2. Bentuk-Bentuk Koloni Mikroba.....	15
Gambar 2.3. Tepi Koloni Mikroba.....	15
Gambar 2.4. Elevasi Koloni Mikroba.....	16
Gambar 2.5. Warna Koloni Mikroba.....	16
Gambar 2.6. Macam-Macam Bentuk Coccus pada Bakteri.....	17
Gambar 2.7. Macam-Macam Bentuk Basil.....	18
Gambar 2.8. Macam-Macam Bentuk Spiral.....	19
Gambar 2.9. Bentuk-Bentuk Lain pada Bakteri.....	19
Gambar 2.10. Prinsip Pengoperasian MALDI-TOF MS Tipe BioMérieux.....	22
Gambar 2.11. Morfologi Bakteri <i>Propionibacterium acnes</i>	32
Gambar 2.12. Kurva Pertumbuhan Bakteri.....	33
Gambar 3.1. Pengukuran Zona Hambat.....	43
Gambar 4.1. Isolat Bakteri Endofit Rimpang Temulawak.....	47
Gambar 4.2. Kurva Pertumbuhan Isolat Bakteri Endofit.....	50

DAFTAR LAMPIRAN

1. Lampiran 1. Hasil Identifikasi Bakteri Endofit Rimpang Temulawak.....	83
2. Lampiran 2. Grafik Isolat Bakteri Endofit	84
3. Lampiran 3. Rumus Perhitungan.....	85
4. Lampiran 4. Data Hasil Penelitian	86
5. Lampiran 5. Gambar Isolat dan Hasil Mikroskopis	87
6. Lampiran 6. Gambar Uji Antibakteri	89
7. Lampiran 7. Gambar Hasil Uji Fitokimia	90
8. Lampiran 8. Hasil Uji Konsentrasi Hambat dan Bunuh Minimum	91
9. Lampiran 9. Identifikasi MALDI-TOF MS	94

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia termasuk salah satu negara yang kaya akan keanekaragaman hayatinya, dikarenakan termasuk ke dalam wilayah yang memiliki iklim tropis, sehingga menjadi suatu kelebihan dalam mendapatkan sumber bioaktif. Keanekaragaman tumbuhan yang terdapat di Indonesia memiliki kandungan metabolit sekunder yang dimanfaatkan sebagai antimikroba. Tumbuhan hidup di iklim yang tropis dapat menghasilkan aktivitas senyawa metabolit sekunder yang tinggi (Irdawati *et al*, 2017).

Allah SWT menciptakan keanekaragaman hayati sebagai rahmat yang diberikan serta untuk dimanfaatkan manusia, dalam Al-Qur'an surat Asy-Syu'ara' ayat 7-8 Allah SWT berfirman:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً وَمَا كَانَ أَكْثَرُهُمْ مُؤْمِنِينَ ﴿٨﴾

Artinya: “Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak Kami telah menumbuhkan di sana segala jenis (tanaman) yang tumbuh baik? Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kekuasaan Allah), tetapi kebanyakan mereka tidak beriman.” (QS: Asy-Syu'ara' [26]:7-8)

Menurut tafsir Al-Mishbah, penjelasan ayat tersebut menyatakan bahwa kaum musyrikin menolak untuk percaya dan bahkan mencemooh ayat Allah. Kaum tersebut menolak karena sikap keras kepala. Disituasi ini mereka ditanyakan, apakah mereka akan terus mempertahankan kekufurannya meskipun banyak bukti yang telah disajikan dan tersebar? Apakah mereka tidak mau memperhatikan gugusan bintang di langit dan tidak melihat ke luasannya bumi, serta segala isinya?

Allah telah menumbuhkan berbagai macam jenis tumbuhan di sana, yang semua tumbuh subur dan bermanfaat. Hal ini merupakan tanda yang menunjukkan keberadaan Pencipta Yang Maha Esa memiliki kekuasaan untuk menghidupkan dan membangkitkan yang telah mati. Namun, disayangkan bahwa mereka tidak memperhatikan tanda-tanda tersebut, sehingga tidak menemukannya, dan sebagian besar dari mereka tidak akan termasuk golongan orang yang beriman. (Shihab, 2002).

Allah SWT menciptakan segala jenis tumbuhan dengan keberagaman manfaatnya bagi setiap makhluk di bumi. Salah satu jenis tumbuhan yang diciptakan Allah SWT yaitu tumbuhan obat. Tumbuhan obat ini memiliki berbagai bagian seperti buah, daun, akar, bunga, getah (resin), batang (kulit), dan rimpang yang mengandung senyawa aktif yang bermanfaat sebagai penyembuh penyakit serta untuk menjaga kesehatan (Yassir & Asnah, 2019). Tumbuhan yang seringkali dimanfaatkan sebagai obat adalah temulawak.

Tanaman obat temulawak termasuk tanaman yang diminati masyarakat karena kandungan kurkumin dan minyak atsirinya yang memiliki manfaat untuk meningkatkan fungsi ginjal, merangsang nafsu makan, mengatasi gangguan hati, dan menurunkan demam. Permintaan akan temulawak semakin meningkat seiring dengan pertumbuhan industri farmasi, obat tradisional, dan kosmetika yang membutuhkan temulawak sebagai bahan utama (Karimah *et al*, 2013). Temulawak memiliki manfaat sebagai obat jerawat karena membantu mengurangi jerawat yang disebabkan oleh bakteri patogen (Dermawaty, 2015).

Jerawat merupakan masalah kulit umum yang mempengaruhi penampilan seseorang. Jerawat, atau yang dikenal sebagai *acne vulgaris*, terjadi karena

peradangan pada folikel sebaceous, yang ditunjukkan oleh munculnya komedo, pustula, dan papula di area wajah, bahu, dada, punggung atas, serta lengan atas. Biasanya, kondisi ini muncul pada masa remaja dan seringkali dapat sembuh sendiri. Patofisiologi jerawat disebabkan empat faktor yang saling mempengaruhi, yaitu hiperkeratosis folikular, invasi bakteri, peningkatan produksi sebum, dan peradangan (Madelina & Sulistyaningsih, 2018). Jerawat timbul ketika kelenjar minyak kulit meningkat aktivitasnya, menyebabkan pori-pori kulit tersumbat oleh penumpukan lemak yang berlebihan. Apabila penumpukan ini tercampur dengan keringat, debu, dan kotoran lainnya, dapat terbentuk komedo yang berwarna hitam di atasnya. Komedo ini bisa terinfeksi oleh bakteri, yang mengakibatkan peradangan kulit yang dikenal sebagai jerawat (Handayani, 2015).

Jerawat bukanlah kondisi kulit yang mengancam jiwa, namun keberadaannya dapat menyebabkan dampak psikologis yang mengurangi rasa percaya diri dan mempengaruhi kualitas hidup seseorang. Jerawat juga dapat menimbulkan bekas luka pada kulit, sehingga membuat permukaan kulit menjadi tidak rata dan berlubang secara permanen, serta menyebabkan perubahan fisik pada tubuh (Wardani, 2020). Menurut Meliala & Riri (2020) bahwa perubahan yang terjadi akibat jerawat dapat menimbulkan kekhawatiran dan depresi. Oleh sebab itu, penanganan masalah kulit seperti jerawat sangat penting. Selain itu, wajah yang berjerawat juga dapat mempengaruhi perkembangan psikososial, termasuk rasa percaya diri. Menurut Latifah dan Kurniawaty (2015) Ada berbagai faktor yang dapat menyebabkan jerawat, termasuk faktor genetik atau keturunan, hormon, kondisi psikologis, dan infeksi bakteri. Peradangan pada jerawat dapat disebabkan oleh bakteri seperti *Propionibacterium acnes* (Fissy *et al*, 2014). Hasil penelitian

Yousif & Rassool (2016) menemukan isolat bakteri dari pasien berjerawat yang banyak ditemukan yaitu jenis *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes*.

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Febriyossa & Novita (2021), temulawak menunjukkan daya hambat yang lebih tinggi terhadap *Staphylococcus aureus* dibandingkan dengan kunyit dan jahe, dengan nilai hambatan sebesar 14,13 mm. Selain itu, penelitian oleh Anggraeni (2020) menunjukkan bahwa temulawak memiliki aktivitas paling kuat terhadap bakteri penyebab jerawat, *Propionibacterium acnes*. Hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak temulawak lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P. acnes*, dengan nilai konsentrasi hambat minimal 32 mg/ml, dibandingkan dengan *S. aureus* yang mencapai 64 mg/ml dan *S. epidermidis* yang mencapai 256 mg/ml.

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Zahrah *et al.* (2018), ekstrak rimpang temulawak menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*, dengan konsentrasi minimum yang menghambat pertumbuhannya adalah 25 µg/ml. Selain itu, konsentrasi minimum yang dapat membunuh *P. acnes* adalah 50 µg/ml. Hal ini disebabkan oleh adanya senyawa aktif dalam temulawak, seperti minyak atsiri, flavonoid, alkaloid, terpenoid, dan kurkuminoid.

Penelitian mengenai komponen aktif rimpang temulawak yang berpotensi sebagai antimikroba telah banyak dilakukan (Zahrah *et al.*, 2018). Selain itu, rimpang temulawak telah banyak dimanfaatkan di rumah tangga maupun di dalam suatu industri, contohnya industri farmasi. Hal ini membutuhkan teknik pengolahan yang baik untuk menjaga kualitas, membutuhkan biaya tinggi, dan menghadapi

banyak kendala jika dikembangkan diskala industri. Oleh karena itu, diperlukan bahan bioaktif alternatif yang lebih murah dan ramah lingkungan. Salah satu solusinya adalah memanfaatkan mikroorganisme pada tumbuhan, yaitu bakteri endofit (Miliana & Wahyu, 2015).

Bakteri endofit merupakan mikroorganisme yang hidupnya di jaringan tumbuhan, tidak akan menimbulkan gejala penyakit pada tanaman inangnya, dan dapat diisolasi dari jaringan tanaman tersebut. Mikroba endofit dapat ditemukan di berbagai bagian tanaman, seperti akar, biji, batang, ovula, umbi, daun, dan buah. Mikroorganisme memiliki siklus hidup yang lebih singkat daripada tanaman dan dapat dengan mudah tumbuh, serta mampu menghasilkan senyawa bioaktif dalam jumlah besar melalui proses fermentasi (Milliana & Wahyu, 2015). Keberadaan endofit mempengaruhi sejumlah aktivitas penting pada tanaman inang. Mikroba endofit biasanya memasuki tumbuhan melalui akar dan udara misal batang, bunga batang, kotiledon, dan daun. Mikroba endofit berada di titik masuk dan dapat menyebar ke seluruh bagian tanaman. Mikroba endofit dapat menetap di ruang antar sel, dalam sel tanaman, dan dalam sistem vaskular tanaman. Setelah menetap di jaringan tanaman, mikroba dapat menghasilkan senyawa metabolit, termasuk senyawa antimikroba (Zulfarina *et al*, 2022).

Penelitian bakteri endofit dari rimpang temulawak telah dikaji antara lain Milliana & Wahyu (2015) dalam penelitiannya memperoleh 4 isolat bakteri endofit dari rimpang temulawak yang memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan fungi uji *Candida albicans* kisaran 0,4 mm - 0,45 mm. Sedangkan hasil penelitian Imawati (2015) mendapatkan 4 isolat bakteri endofit yang dapat menghambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sebagai bakteri negatif dengan zona

hambatnya kisaran 3,3 mm - 5,6 mm dan *Staphylococcus epidermidis* sebagai bakteri positif dengan daya hambat kisaran 1,7 mm – 4,7 mm.

Penelitian mengenai bakteri endofit rimpang temulawak sebagai antibakteri banyak menggunakan difusi cakram sebagai metodenya, dan hasil ujinya memiliki daya hambat lemah hingga sedang. Pada penelitian ini bakteri yang digunakan yaitu *Propionibacterium acnes* termasuk dalam bakteri anaerob fakultatif (Baraga *et al.*, 2022) yang dapat tumbuh tersebar di seluruh media, sehingga dalam uji antibakteri penelitian ini menggunakan metode difusi sumuran yang dapat menguji bakteri anaerob fakultatif (Sari & Prayudyaningsih, 2017).

Menurut Milliana & Wahyu (2015), bakteri endofit yang diisolasi dari tumbuhan memiliki potensi untuk menghasilkan metabolit sekunder yang serupa pada tumbuhan inangnya, bahkan mungkin dalam konsentrasi yang lebih tinggi. Karena bakteri endofit memperoleh nutrisi dari tanaman tersebut, tidak perlu mengambil tumbuhan aslinya untuk mendapatkan manfaatnya. Oleh karena itu, penelitian isolasi dan identifikasi bakteri endofit dari rimpang temulawak yang memiliki kemampuan antibakteri terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* menjadi sangat penting. Senyawa antibakteri yang didapatkan dari penelitian ini diharapkan dapat membantu pasien yang mengalami infeksi bakteri, termasuk *Propionibacterium acnes* yang merupakan penyebab jerawat.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana karakter morfologi makroskopis dan mikroskopis isolat bakteri endofit dari rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*)?

2. Apakah isolat bakteri endofit rimpang temulawak berpotensi sebagai antibakteri *Propionibacterium acnes*?
3. Apa hasil identifikasi spesies bakteri endofit rimpang temulawak yang mampu menghambat *Propionibacterium acnes* dengan MALDI-TOF MS?

1.3 Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah yang telah diuraikan, penelitian ini bertujuan untuk:

1. Untuk mengetahui karakter morfologi makroskopis dan mikroskopis isolat bakteri endofit dari rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*).
2. Untuk memperoleh isolat bakteri endofit dari rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) yang berpotensi sebagai antibakteri *Propionibacterium acnes*.
3. Untuk mengetahui spesies bakteri endofit rimpang temulawak yang mampu menghambat *Propionibacterium acnes*.

1.4 Manfaat

Penelitian ini diharapkan memberikan manfaat sebagai berikut:

1. Meningkatkan pemahaman dalam bidang mikrobiologi kesehatan, terutama mengenai bakteri endofit yang berasal dari rimpang temulawak dan memiliki potensi untuk memproduksi senyawa antibakteri.
2. Mendapatkan pengalaman dalam teknik isolasi dan identifikasi bakteri endofit yang berasal dari rimpang temulawak.
3. Memberikan informasi ilmiah tentang bakteri endofit yang memiliki kemampuan untuk menghasilkan senyawa antibakteri.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Bakteri endofit yang digunakan dalam penelitian ini diisolasi dari rimpang temulawak yang berasal dari kebun rumah warga di daerah jalan Sunan Kalijaga, Lowokwaru, Kota Malang.
2. Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian adalah *Propionibacterium acnes* dari PT. Agritama Sinergi Inovasi Bandung, Indonesia. Kode strain ATCC-6919.
3. Aktivitas antibakteri dilihat berdasarkan diameter zona hambat, konsentrasi hambat minimum dan konsentrasi bunuh minimum.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Temulawak

2.1.1 Morfologi Temulawak dan Klasifikasinya

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) merupakan tumbuhan tahunan yang tumbuh berkelompok dan memiliki batang semu dengan tinggi 2-2,5 meter. Setiap kelompok terdiri dari beberapa tanaman, biasanya berkisar antara 3 hingga 9 anakan, dan masing-masing tanaman memiliki antara 2 hingga 9 daun. Temulawak memiliki daun yang panjang dan lebar, dengan panjang sekitar 50-55 cm dan lebar sekitar 18 cm. Tanaman temulawak berbunga sepanjang tahun secara bergantian dari rimpangnya. Tangkai bunganya panjangnya sekitar 3 cm, dan memiliki susunan bunganya (*inflorescentia*) dengan panjangnya dapat mencapai 1,5 cm. Setiap ketiak daun mengandung sekitar 34 bunga. Tangkai bunganya ramping serta berbulu dengan panjang antara 4 hingga 37 cm. Bulir bunga temulawak berbentuk bulat memanjang yang panjangnya dapat sebesar 23 cm. Bunga temulawak dilengkapi banyak daun pelindung yang panjangnya bisa melebihi atau kadang-kadang hampir sama dengan panjang pada mahkota bunganya. Bunga temulawak mekar di pagi hari dan layu pada sore hari (Rahmat *et al.*, 2021).

Rimpang induk temulawak berbentuk bulat oval mirip telur, sementara rimpang cabang yang tumbuh di bagian samping berbentuk memanjang. Setiap tanaman memiliki sekitar 3 hingga 4 rimpang cabang. Temulawak memiliki sistem akar serabut yang panjangnya sekitar 2,5 cm dengan posisinya tidak teratur (Rahmat, *et al.* 2021). Terdapat dua jenis rimpang temulawak, yaitu rimpang induk dan rimpang cabang. Rimpang induk memiliki warna yang kuning tua atau cokelat

kemerahan, dan bagian dalamnya warna jingga kecokelatan. Rimpang cabang, yang tumbuh dari rimpang induk, memiliki ukuran lebih kecil dan warna lebih muda. Tanaman temulawak memiliki akar dengan ujung yang melebar. Genus *Curcuma* terdiri dari sekitar 60 hingga 80 spesies. Gambar morfologi dari rimpang temulawak dapat dilihat pada gambar 2.1.



Gambar 2.1. Morfologi Temulawak. (a) daun dan batang, (b) bunga, (c) rimpang, (d) serbuk temulawak (Rahmat *et al.*, 2021).

Klasifikasi dari temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) menurut Kustina, *et al.* (2020) sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Division	: Magnoliophyta
Subdivisions	: Angiosperms
Class	: Monocotyledonae
Order	: Zingiberales
Family	: Zingiberaceae

Genus : *Curcuma*

Species : *Curcuma xanthorrhiza*

Binominal name : *Curcuma xanthorrhiza* Roxb.

2.1.2 Tempat Pertumbuhan Temulawak

Tanaman temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) membutuhkan intensitas cahaya matahari yang rendah, temulawak secara alami dapat tumbuh di bawah naungan pohon jati, bambu, dan termasuk tanaman yang campuran. Namun, tanaman ini juga mampu tumbuh di area terbuka dengan paparan sinar matahari langsung. Tanaman ini memiliki kemampuan adaptasi yang tinggi terhadap berbagai kondisi cuaca di wilayah yang memiliki iklim tropis. Tanaman temulawak umumnya hidup dilingkungan yang memiliki suhu berkisar 19-30 °C dengan intensitas cahaya relatif 59-82% (Said, 2007).

Temulawak dapat tumbuh subur di tanah yang gembur untuk mencapai ukuran yang besar. temulawak tidak hanya dapat tumbuh di dataran rendah, tetapi juga dapat tumbuh diketinggian tanah 1.500 meter di atas permukaan laut (dpl), perkarangan, tanah kering, padang alang-alang, dan ladang (Syamsudin *et al.*, 2019). Rimpang temulawak dapat dipanen pada umur sekitar 9-12 bulan, hal ini berkaitan dengan sintesis kurkumin yang dimulai saat umur 120 hari setelah tumbuh tunas dan mencapai tingkat optimal saat umur 180 190 hari setelah pembungaan (Said, 2007). Perbanyakan tanaman temulawak dapat dilakukan dengan memisahkan anakan rimpang yang tumbuh didekat batang dan menanam rimpang yang sudah tua (Fauzi, 2019).

2.1.3 Kandungan dan Manfaat Temulawak

Temulawak termasuk dalam famili Zingiberaceae yang dikenal sebagai tumbuhan jahe-jahean. Menurut jurnal Mutaqin *et al.* (2017) tanaman dari famili Zingiberaceae sering dimanfaatkan sebagai makanan, bahan obat, bumbu masakan, dan minuman. Sebagaimana dijelaskan dalam ayat Al-Qur'an, surah Al-Insan ayat 17-18.:

وَيُسْقَوْنَ فِيهَا كَأْسًا كَانَ مِزَاجُهَا زَنْجَبِيلًا ۖ عَيْنًا فِيهَا تُسَمَّى سَلْسَبِيلًا ﴿١٨﴾

Artinya: “Di sana mereka diberi segelas minuman bercampur jahe. (yang didatangkan dari) sebuah mata air (di surga) yang dinamakan Salsabil.” (QS: Al-Insan [76]: 17-18)

Tafsir Al-Mishbah menjelaskan ayat tersebut bahwa penghuni surga disuguhkan dengan minuman yang terbuat dari jahe, tetapi minuman tersebut tidak sama dengan jahe yang ada di dunia. Jahe tersebut berasal dari mata air surgawi memiliki karakteristik khusus yang disebut sebagai sahalal. Kata (سلسبيل) "salsabilan" diartikan oleh banyak ulama sebagai sesuatu yang mengalir dengan sangat mudah di tenggorokan. Kata ini memiliki makna yang serupa dengan (سلس) *salis* dan (سلسال) *silsal*, namun dalam ayat ini, huruf "بـ" (*ba'*) dan "يـ" (*ya'*) ditambahkan untuk mengemukakan kelancarannya. Menurut Ibn 'Asyur, kata tersebut merupakan akronim dari kata (السَّلَاسَة) *as-salasah* yang berarti lancar dan (السَّبِيل) "*as-sabalah*" yang berarti tercurah, yang keduanya berasal dari kata (سَبِيل) "*sabil*" yang berarti jalan. Oleh karena itu, hal ini menunjukkan bahwa minuman tersebut sangat mudah diminum. Apapun interpretasinya, yang jelas minuman tersebut adalah dari mata air surga (Shihab, 2002).

Menurut Mutaqin *et al.* (2017), tanaman rempah memiliki manfaat sebagai pengobatan tradisional yang umumnya diperoleh dari generasi ke generasi. Bagian tanaman yang umumnya digunakan yaitu rhizome atau rimpangnya. Ada beberapa jenis tanaman dalam famili Zingiberaceae yang umumnya digunakan sebagai obat, salah satunya yaitu temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*). Temulawak mengandung senyawa aktif secara fisiologis diantaranya kurkuminoid dan minyak atsiri. Kandungan kurkuminoid pada temulawak memiliki manfaat diantaranya untuk antibakteri, antioksidan, antikanker, dan antitumor. Temulawak terdapat kandungan kurkuminoid sekitar antara 1-2%, dan kandungan minyak atsiri berkisar 3-12%.. Kandungan minyak atsiri dalam temulawak seperti limonen sebagai pemberi aroma, sedangkan kandungan flavonoidnya berkhasiat menyembuhkan radang (Dermawaty, 2015). Kandungan yang terdapat pada temulawak diantaranya yaitu protein, air, abu, pati, kurkumin, dan lemak (Syamsudin, 2019).

Kandungan minyak atsiri pada temulawak diantaranya felandren, pinen dipenten, metilchavikol, anetol, anisaldehida, asam anisat, kamfer, dan fenchon. Rimpang temulawak terdapat kandungan minyak lemak (Dermawaty, 2015). Minyak atsiri pada temulawak terdapat komponen utama yaitu xanthorrhizol yang merupakan sesquiterpenoid tipe bisabolene yang diperoleh melalui hidrodistilasi. Xanthorrhizol hanya ada di temulawak, sehingga menjadi pembeda tanaman ini dari spesies *Curcuma* lainnya. Xanthorrhizol memiliki aktivitas biologis seperti sebagai antibakteri, antiseptik, dan antibiotik. Kandungannya berkisar antara 2,6% hingga 13,6% (Salleh *et al.*, 2016). Hasil penelitian Agustina *et al.* (2016) mengandung berbagai metabolit sekunder diantaranya flavonoid, alkaloid, saponin, steroid, dan

terpenoid yang berpotensi sebagai senyawa antibakteri (Azmin & Rahmawati, 2019).

2.2 Isolasi Bakteri

Isolasi bakteri adalah proses mengambil bakteri dari lingkungan sekitar atau medium asalnya, kemudian menumbuhkannya di dalam medium buatan untuk memperoleh biakan murni. Prinsip dasar isolasi yaitu memisahkan satu jenis mikroba dari campuran mikroba lainnya. Proses ini dilakukan dengan cara menumbuhkan mikroba pada media padat, karena sel-sel mikroba membentuk koloni tetap pada tempatnya (Sabbathini & Pujiyanto, 2017).

Menurut Effendi (2020) bahwa terdapat beberapa cara yang dapat digunakan untuk mendapatkan biakan murni dari suatu campuran biakan, dan dua diantaranya yang umum digunakan adalah metode cawan gores dan cawan tuang. Kedua metode ini didasarkan pada prinsip pengenceran dengan tujuan untuk mengisolasi spesies individu. Proses ini dilakukan karena setiap koloni dapat dipisahkan dari jenis sel tertentu yang dapat diamati (Effendi, 2020).

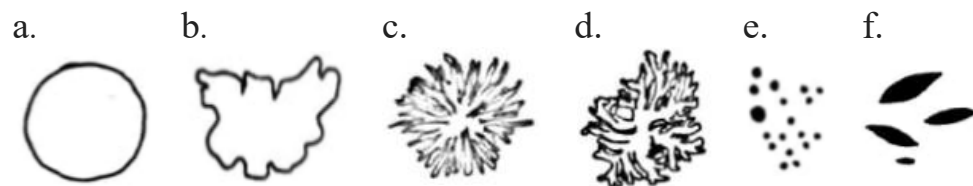
2.3 Identifikasi Bakteri

Suatu jenis bakteri dapat diketahui dengan dilakukannya identifikasi. Identifikasi merupakan metode untuk mengetahui jenis bakteri berdasarkan ciri-ciri khasnya. Proses ini bertujuan untuk menetapkan nama suatu organisme dalam suatu kelompok tertentu berdasarkan persamaan dan perbedaan karakteristiknya. Identifikasi bakteri melibatkan perbandingan ciri-ciri yang ada, dilakukan dengan pengamatan morfologis dan fisiologis organisme tersebut (Sabbathini *et al.*, 2017).

2.3.1 Identifikasi Makroskopis Bakteri

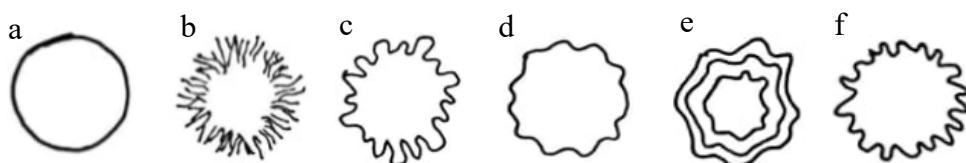
Pengamatan makroskopik menurut Pikoli *et al.* (2020) terdiri dari tipe: bentuk, margin, elevasi, dan warna koloni. Pengamatan morfologi koloni dapat dibantu dengan mikroskop yang menggunakan lensa objektif 4x, sehingga sifat koloni lebih terlihat jelas, terutama saat mengamati margin. Berikut jenis-jenis karakter morfologi koloni isolat mikroorganisme menurut (Pikoli *et al.*, 2020):

1. Bentuk koloni (wujud utuh koloni) yaitu: melingkar (*Circular*), berbenang (*Filamentous*), tidak berpola (*Irregular*), menyerupai akar (*Rhizoid*), menyerupai lensa (*Spindle*), dan melingkar dengan ukuran yang sangat kecil (*Punctiform*).



Gambar 2.2. Bentuk-Bentuk Koloni Mikroba. (a) Circular, (b) Irregular, (c) Filamentous, (d) Rhizoid, (e) Punctiform, dan (f) Spindle. (Pikoli *et al.*, 2020).

2. Tepi koloni (bentuk tepian koloni atau pinggiranya) terdiri dari: tepian koloni tegas dan rata (*Entire*), tepian koloni menyerupai benang-benang (*Filamentous*), tepian koloni berlekuk (*Lobate*), tepian koloni bergelombang (*Undulate*), tepian koloni keriting atau berkerut (*Curled*), dan tepian koloni berbentuk geligi (*Serrate*).



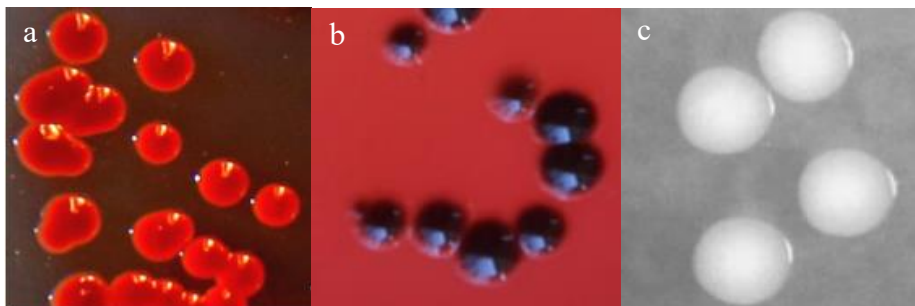
Gambar 2.3. Tepi Koloni Mikroba. (a) *Entire*, (b) *Filamentous*, (c) *Lobate*, (d) *Undulate*, (e) *Undulate*, dan (f) *Serrate*. (Pikoli *et al.*, 2020).

3. Ketinggian pertumbuhan koloni, menonjol atau tidak dari permukaan agar (Elevasi) berupa: koloni rata atau tingginya hampir sama permukaan agar (*Flat*), koloni agak tinggi dari permukaan media (*Raised*), koloni cembung atau seperti setengah lingkaran (*Convex*), koloni agak tinggi dari media dengan puncak yang cembung (*Umbonate*), permukaannya cembung (*Pulvinate*), dan terdapat cekungan kecil di tengah (*Crateriform*).



Gambar 2.4. Elevasi Koloni Mikroba. (a) *Flat*, (b) *Raised*, (c) *Convex*, (d) *Umbonate*, (e) *Pulvinate*, dan (f) *Crateriform*. (Pikoli *et al.*, 2020).

4. Warna koloni (Pigmentasi) berupa: berwarna selain putih atau krem (*Pigmented*) dan putih atau krem (tidak berpigmen).



Gambar 2.5. Warna Koloni Mikroba. (a, b) *Pigmented*, dan (c) *Putih / krem* (tidak berpigmen). (Pikoli *et al.*, 2020).

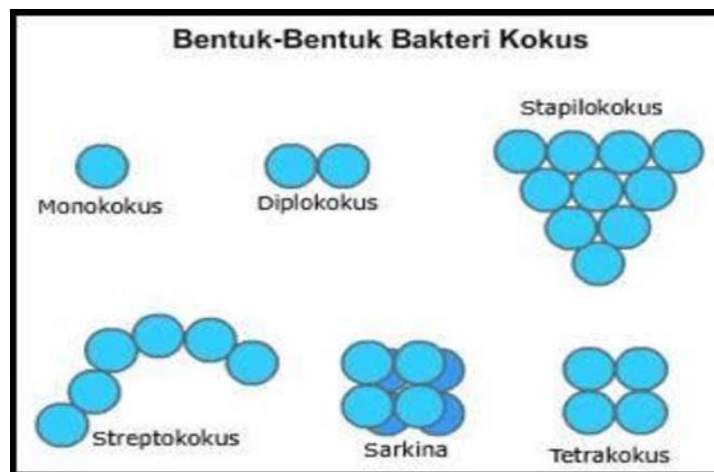
2.3.2 Identifikasi Mikroskopis Bakteri

Identifikasi mikroskopis pada bakteri dilakukan pada koloni bakteri yang telah diisolasi melalui proses pewarnaan Gram, kemudian dilihat dengan menggunakan mikroskop (Rahmah *et al.*, 2023). Identifikasi mikroskopik dapat dilakukan dengan pewarnaan Gram. Definisi pewarnaan Gram yaitu salah satu teknik pewarnaan bakteri yang umum digunakan untuk identifikasi. Proses identifikasi dengan pewarnaan Gram yaitu dengan pengecatan bakteri yang telah

difiksasi menggunakan serangkaian larutan pewarna seperti kristal violet, yodium, alkohol (sebagai bahan penghilang warna), dan larutan safranin atau air fuchsin. Hasil dari pewarnaan pada bakteri jenis Gram positif warna selnya ungu disebabkan bakteri tersebut dapat menahan zat pewarna kristal violet, sementara jenis bakteri Gram negatif warna kristal violet akan hilang setelah dibilas, dan diberi pewarna safranin atau air fuchsin, sehingga menghasilkan sel yang berwarna merah. Identifikasi secara mikroskopis juga dilakukan dengan mengamati bentuk dari sel bakterinya (Amin *et al.*, 2023). Beberapa bentuk dari koloni bakteri menurut Pujiati, P. (2015) sebagai berikut:

1) Bentuk Coccus (bulat)

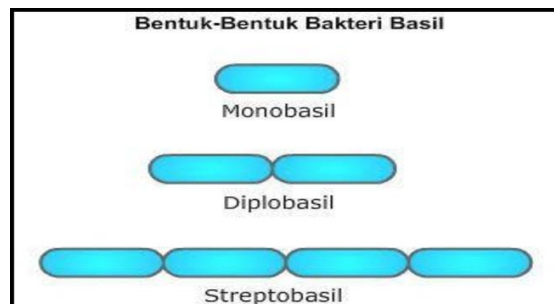
Bentuk coccus (bulat) seperti buah beri kecil jika dilihat dibawah mikroskop. Beberapa coccus dapat hidup sendiri-sendiri, ada juga yang berkoloni berpasangan tergantung dari proses pembelahannya yang dapat melekat satu sama lain.



Gambar 2.6. Macam-Macam Bentuk Coccus pada Bakteri. (Amin *et al.*, 2023)

2) Bentuk Basil (Batang)

Basil (batang) merupakan bakteri berbentuknya seperti batang atau silinder. Beberapa basil panjang dan lebarnya dan bentuknya lonjong, Bantuk basil menyerupai coccus disebut coccus-basil. Basil dapat membelah dalam satu bidang



Gambar 2.7. Macam-Macam Bentuk Basil. (Amin *et al.*, 2023)

3) Bentuk Spiral

Spirilia (spirillum) bakteri yang berbentuk spiral. Berikut kelompok bakteri berbentuk spiral:

- a) Spiral yaitu memiliki lengkung lebih dari setengah lingkaran.

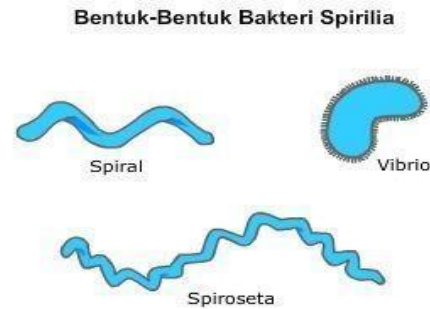
Contoh: *Spirillum minor*

- b) Vibrio yaitu memiliki lengkung kurang dari setengah lingkaran.

Contoh: *Vibrio comma*

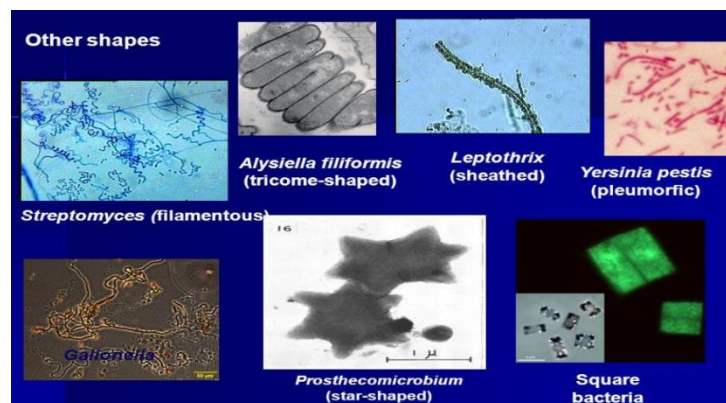
- c) Spiroseta memiliki bentuk spiral yang halus dan lentur

Contoh: *Treponema pallidum*



Gambar 2.8. Macam-Macam Bentuk Spiral. (Amin *et al.*, 2023)

4) Bentuk-bentuk lain pada bakteri



Gambar 2.9. Bentuk-Bentuk Lain pada Bakteri. (Amin *et al.*, 2023)

2.3.3 Identifikasi MALDI-TOF MS

MALDI atau singkatan dari *Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization* merupakan istilah yang diperkenalkan tahun 1987. Maldi adalah metode ionisasi lunak dalam spektrometri massa yang digunakan untuk menganalisis biomolekul seperti glukosa, peptide, dan protein, serta molekul organik besar misalnya polimer, dendrimer, dan makromolekul lainnya). Ketika diionisasikan secara konvensional bahan-bahan tersebut mudah pecah atau rusak. Sampel yang akan dianalisis dengan MALDI, sebelumnya diberi dengan larutan matriks yang terdapat kandungan molekul kecil serta mampu menyerap sinar ultraviolet, dengan rasio pada sampel sekitar 1000–10.000 : 1, umumnya yang digunakan berkisar 1000 : 1. *Time of Flight* (TOF) adalah metode yang mengukur rasio massa pada muatan partikel. Pada

prinsipnya, MALDI berfokus pada teknik ionisasi sampel dalam sumber ion, sementara TOF berkaitan dengan teknik pemisahan ion dalam analisis. (Andayaningsih & Siti, 2016). MALDI-TOF MS membantu identifikasi berbagai jenis bakteri dengan mendeteksi bagian proteinnya (Alizadeh *et al.*, 2021).

Matriks merupakan molekul kecil dari asam organik tertentu, dapat menyerap energi yang dihasilkan oleh sinar laser yaitu ultraviolet ataupun inframerah. Energi ini secara perlahan dialihkan ke molekul yang lebih besar dalam sampel. Ada beberapa jenis matriks yang digunakan, tergantung pada target persiapan sampel. Molekul dengan massa rendah (antara 1–10 kDa) menggunakan Cyano4-Hydroxycinnamic Acid (CHCA), massa molekuler antara 10–100 kDa menggunakan 2,5-dihydroxyacetophenone (2,5-DHAP) atau sinapinic acid (SA). Sementara itu, untuk menganalisis senyawa dengan berat molekul rendah, seperti glikoprotein, fosfopeptida, dan protein hidrofobik menggunakan matriks 2,5-dihydroxybenzoic acid (DHB). Senyawa matriks akan membentuk kristal dan bergabung dengan molekul analit, dikarenakan pelarut matriks memiliki sifat yang mudah menguap, saat terjadi evaporasi, Ketika sinar laser mengenai kristal dalam kondisi kedap udara, matriks-analit tersebut menyerap foton dan mengalami ablation. Analit akan bertransisi dari bentuk kristal padat ke bentuk gas yang dapat menguap, dan bersamaan dengan itu akan mengakibatkan pembentukan muatan positif karena terjadinya transfer proton dari matriks. Molekul yang bermuatan positif kemudian akan masuk ke dalam perangkat analisis. (Andayaningsih & Siti, 2016).

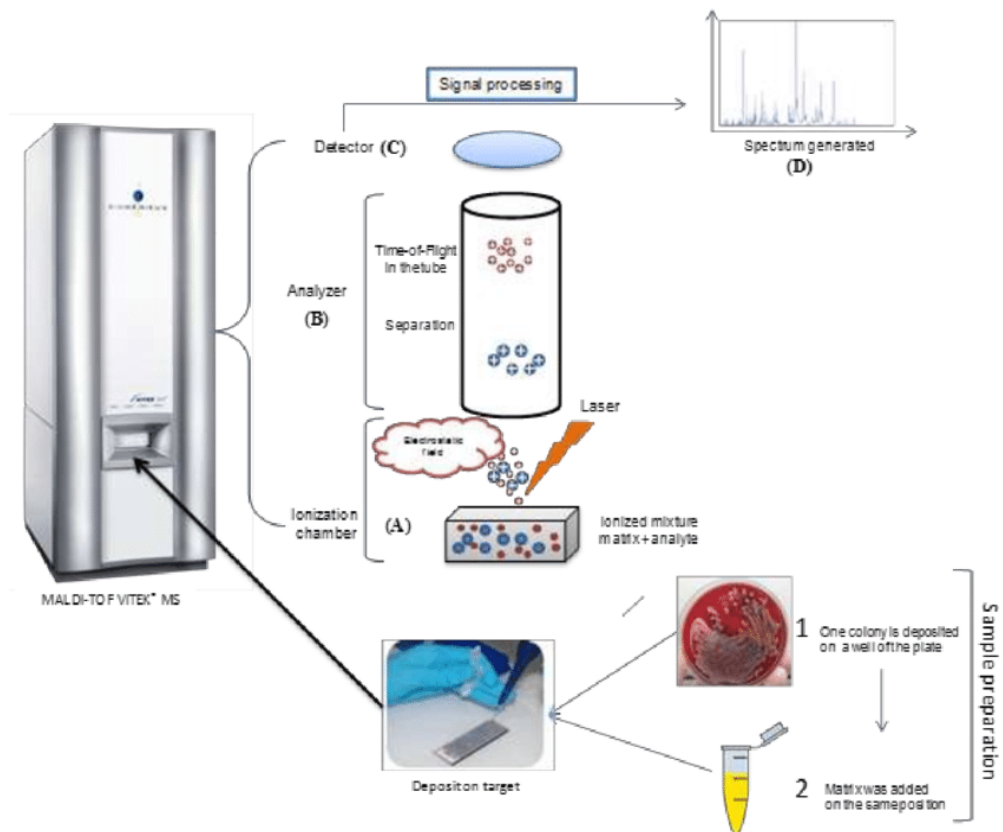
Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) memiliki 3 tipe yaitu Andromas, BioMérieux,

dan Bruker daltonics. Ketiganya memiliki hasil interpretasi yang berbeda-beda. Kelebihan dari identifikasi MALDI-TOF MS diantaranya pengoperasian yang mudah, waktu deteksi lebih efisien dibandingkan dengan metode biokimia tradisional., analisis sampel dalam skala besar, dan akurasi yang tinggi (Kemalaputri *et al.*, 2017), sedangkan kekurangan dari alat MALDI-TOF ini yaitu database yang ada terbatas sehingga tidak semua jenis spesies dapat diidentifikasi menggunakan metode ini, alat ini tidak dapat membedakan spesies yang berkerabat dikarenakan kesamaan yang melekat pada organisme itu sendiri contohnya tidak dapat membedakan *E. coli* dari *Shigella* (Rychert, 2019).

Pengidentifikasian mikroba dengan menggunakan alat MALDI-TOF MS dilakukan dengan membandingkan *Peptide Mass Fingerprinting* (PMF) dari sampel dengan PMF yang telah tercatat dalam basis data atau dengan membandingkan massa biomarker dari organisme sampel dengan entri dalam database proteom. Pencocokan PMF dilakukan dengan membandingkan spektrum massa (MS) dari sampel isolat mikroba dengan spektrum massa dari isolat mikroba yang tersedia di database. Identifikasi mikroba dilakukan pada tingkat spesies dengan menggunakan rentang massa tipikal m/z sebesar 2–20 kDa, yang sebagian besar mencakup protein ribosom dan beberapa protein housekeeping (Singhal, *et al.*, 2015).

Prinsip pengukuran alat MALDI-TOF MS didasarkan pada kemampuan medan listrik atau magnet untuk membelokkan aliran ion, masing-masing bermassa dan bermuatan sebanding dengan lintasannya. Spektrometri massa dapat dibagi menjadi tiga langkah:

- Ruang ionisasi yang menghasilkan ion dalam fase gas
- Penganalisis yang memilih ion berdasarkan rasio massa terhadap muatan (m/z)
- Detektor yang mengubah arus ionik menjadi arus listrik.



Gambar 2.10. Prinsip Pengoperasian MALDI-TOF MS Tipe BioMérieux (Lo et al., 2017)

Penembakkan dengan sinar laser menghasilkan ion di ruang ionisasi. Ion-ion ini dipercepat menjadi medan listrik yang mengarahkannya ke penganalisis yang memisahkannya berdasarkan waktu terbang bebasnya (TOF: *Time-Of-Flight*). Molekul yang lebih kecil menangkap detektor terlebih dahulu, diikuti oleh molekul terbesar, sesuai dengan rasio m/z . Benda-benda yang mempunyai perbandingan m/z yang sama kemudian dipisahkan dengan cermin elektrostatik. Detektor mengubah ion yang diterima menjadi arus listrik yang diperkuat dan didigitalkan.

2.4 Bakteri Endofit

2.4.1 Pengertian Bakteri Endofit

Islam menganjurkan untuk mempelajari sumber daya atau manfaat dari organisme lain seperti mikroba atau hewan kecil lainnya, Allah SWT berfirman dalam Al-Qur'an surah Al-Baqarah ayat 26:

إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةً فَمَا فَوْقَهَا ۚ فَأَمَّا الَّذِينَ آمَنُوا فَيَعْلَمُونَ أَنَّهُ الْحَقُّ مِنْ رَبِّهِمْ ۚ وَأَمَّا الَّذِينَ كَفَرُوا فَيَقُولُونَ مَاذَا أَرَادَ اللَّهُ بِهَذَا مَثَلًا ۚ يُضِلُّ بِهِ كَثِيرًا وَيَهْدِي بِهِ كَثِيرًا ۚ وَمَا يُضِلُّ بِهِ إِلَّا الْفَاسِقِينَ ﴿٢٦﴾

Artinya: “Sesungguhnya Allah tidak segan membuat perumpamaan seekor nyamuk atau yang lebih kecil daripada itu. Adapun orang-orang yang beriman mengetahui bahwa itu kebenaran dari Tuhannya. Akan tetapi, orang-orang kafir berkata, “Apa maksud Allah dengan perumpamaan ini?” Dengan (perumpamaan) itu banyak orang yang disesatkan-Nya. Dengan itu pula banyak orang yang diberi-Nya petunjuk. Namun, tidak ada yang Dia sesatkan dengan (perumpamaan) itu, selain orang-orang fasik.” (QS: Al-Baqarah [2]: 26)

Penafsiran tafsir Al-Mishbah mengenai ayat di atas bahwa Allah tidak ragu untuk membuat perumpamaan atau contoh yang mengesankan, bahkan jika itu berupa sesuatu yang kecil seperti kutu atau yang lebih kecil dari itu. Hal ini dimaksudkan untuk menunjukkan bahwa kebenaran tidak selalu terlihat besar atau menonjol, dan dapat dianggap tidak pantas oleh orang-orang kafir. Bagi orang-orang yang beriman dengan iman yang benar, mereka menyadari bahwa setiap perumpamaan yang diberikan Allah adalah kebenaran yang sempurna yang berasal dari-Nya, Tuhan mereka yang memberikan bimbingan untuk melindungi mereka. Sementara orang-orang kafir, baik yang kekufurannya terang-terangan maupun yang menyembunyikan kekufurannya, terus-menerus bertanya-tanya tentang

maksud Allah dalam memberikan perumpamaan seperti itu. Namun, jawaban atas pertanyaan mereka adalah bahwa perumpamaan itu membutakan dan membelokkan banyak orang dari kebenaran, karena mereka tidak mau memahami. Namun, bagi orang-orang yang tetap teguh dalam keyakinan mereka terhadap keagungan Allah, Dia terus memberikan petunjuk tambahan. Allah tidak menyesatkan orang yang Dia sesatkan, karena mereka yang sesat adalah orang-orang yang sebelumnya telah tenggelam dalam kefasikan yang mendalam dalam jiwa mereka (Shihab, 2002).

Makhluk yang lebih kecil dari nyamuk yaitu makhluk yang memiliki ukuran lebih kecil dari nyamuk, misalnya bakteri, yang tidak sulit dilihat dengan mata telanjang dan dapat diamati melalui mikroskop (Salim, 2022). Mikroba memiliki ukuran kecil dan selalu dianggap merugikan oleh manusia, tetapi apapun yang Allah SWT ciptakan di bumi pasti memiliki manfaatnya. Salah satu mikroba yang dapat memberi manfaat yaitu bakteri endofit. Definisi bakteri endofit yaitu bakteri yang berasosiasi dengan jaringan tanaman inang tanpa mengakibatkan dampak buruk dan meningkatkan pertumbuhan tanaman dengan mengeluarkan berbagai zat bioaktif. Bakteri endofit dapat diisolasi tanaman pada bagian batang, daun, biji, akar, bunga, dan buah (Firdous *et al.*, 2019). Bakteri endofit yang ada di tanaman masuknya dapat melalui kerusakan yang ada di daun, atau lewat proses perkecambahan biji, akar-akar sekunder, stomata. Setelah berada di jaringan tanaman, bakteri dapat ditemukan pada ruang antar sel, dalam jaringan pembuluh dan dalam sel (Resti *et al.*, 2013).

Akar pada tanaman dapat menjadi jalur masuknya bakteri endofit, selain itu bakteri endofit dapat masuk melalui bagian tanaman yang terpapar udara seperti bunga, batang, kotiledon, dan daun (melalui stomata). Bakteri endofit setelah

masuk, dapat tumbuh menyebar ke seluruh bagian tanaman atau disatu titik tertentu. Mikroba endofit juga hidup di ruang intersel atau dalam pembuluh vaskular, serta di buah, daun, batang, dan akar (Purwanto *et al.*, 2014).

Bakteri endofit yang hidup di dalam tanaman terdapat interaksi sebagai suatu simbiosis. Interaksi yang terjadi antara bakteri endofit dan tanaman inangnya bersifat netral atau mutualisme, dikarenakan tanaman inang akan mendapatkan senyawa aktif dan derivat nutrisi dari bakteri endofit untuk hidupnya, sedangkan bakteri endofit akan memperoleh nutrisi dari hasil metabolisme tanaman, serta melindungi tanaman dari patogen (Purwanto *et al.*, 2014). Bakteri endofit yang hidup di jaringan didapatkan dengan melalui isolasi dari tumbuhan yang sebelumnya dilakukan sterilisasi permukaan, atau dapat diperoleh dengan mengekstrak tanamannya (Pulungan & Tumangger, 2018).

Penelitian mengenai isolasi dan identifikasi bakteri endofit rimpang temulawak telah dilakukan oleh Milliana dan Wahyu (2015) menemukan 4 isolat bakteri dari tempat berbeda yaitu lokasi pertama di Pandaan terdapat jenis bakteri *Actinomyces viscosus* dan *Brevibacillus brevis*. Sedangkan bakteri endofit yang dari lokasi Batu adalah *Actinomyces viscosus* dan *Pseudomonas stutzeri*. Sedangkan hasil penelitian Imawati (2015) menemukan 4 isolat bakteri di dua tempat berbeda yaitu lokasi Batu ditemukan bakteri *Actinomyces viscosus* dan *Pseudomonas stutzeri*, sedangkan di lokasi Purwodadi ditemukan bakteri *Actinomyces viscosus* dan *Bacillus brevis*.

2.4.2 Potensi Bakteri Endofit

Bakteri endofit dapat mengikat nitrogen dan melarutkan fosfat, sehingga dapat digunakan untuk mengurangi penggunaan pupuk kimia, memproduksi fitohormon. Bakteri endofit juga dapat meningkatkan produksi senyawa bioaktif alami pada tanaman (Aziz *et al.*, 2013). Bakteri endofit dapat membantu tanaman dengan berperan sebagai agen biokontrol dan pemacu pertumbuhan dikarenakan dapat membantu meningkatkan ketersediaan nutrisi dan menghasilkan hormon pemacu pertumbuhan. Bakteri endofit dapat menjadi pemacu pertumbuhan dengan meningkatkan pertumbuhan tanaman dan mengendalikan hama penyakit. Bakteri endofit juga membantu meningkatkan kelarutan fosfat serta ketersediaan zat besi, memfiksasi nitrogen (N₂), dan dapat menghasilkan hormon pemacu pertumbuhan seperti giberelin, auksin, asam absisat, sitokinin, dan etilen (Hidayati *et al.*, 2014).

Bakteri endofit dapat menghasilkan senyawa metabolit dari beragam struktur seperti flavonoid, alkaloid, steroid, terpenoid, peptide, kuinon, dan fenol yang dapat dimanfaatkan untuk antimikroba (Hanif & Rini, 2017). Menurut hasil penelitian Yuliar *et al* (2013) penggunaan bakteri endofit dalam aktivitas antifungi terhadap *Fusarium* sp. dapat mendegradasikan dinding selnya, dikarenakan bakteri endofit tersebut dapat menghasilkan senyawa kitinase, surfaktin, dan iturin yang dapat menghambat pertumbuhan jamur *Fusarium* sp. Selain itu, menurut jurnal Pulungan & Tumangger (2018) menyatakan bahwa bakteri endofit dapat menghasilkan metabolit sekunder, seperti *Pseudomonas viridiflava* yang dapat menghasilkan senyawa antimikroba karena mengandung ekomisin B dan C.

2.5 Antibakteri

Definisi antibakteri yaitu senyawa yang mampu menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri (Seko *et al.*, 2021). Senyawa antibakteri adalah senyawa yang dapat mengendalikan pertumbuhan bakteri dengan mencegah penyebaran infeksi, membunuh mikroorganisme pada inang yang terinfeksi, serta mencegah perusakan bahan oleh mikroorganisme lainnya. Senyawa antibakteri bekerja dengan cara bakteriostatik, bakteriolitik, dan bakterisidal. (Wahjuni *et al.*, 2022). Menurut Hidayati *et al.* (2017) bakteriostatik yaitu senyawa bekerja dengan menghambat pertumbuhan bakteri, sementara bakterisidal yaitu senyawanya bekerja dengan membunuh bakteri tanpa menyebabkan pecah atau lisisnya sel, dan bakteriolitik yaitu senyawa yang menyebabkan sel bakteri mengalami lisis atau pecah, menyebabkan jumlah sel bakteri berkurang dan terjadi kekeruhan setelah penambahan antimikroba. Cara kerja zat antibakteri menurut Zubaidah *et al.* (2022) adalah sebagai berikut.

1. Perusakan Dinding Sel

Perusakan dinding sel dilakukan dengan cara menghambat pembentukannya atau dengan mengubahnya setelah terbentuk. Pada konsentrasi yang tinggi senyawa antibakteri akan mengganggu ikatan glikosida dan pembentukan dinding sel akan terhenti. Pada konsentrasi yang rendah, pembentukan glikosida dari bahan antibakteri terhambat, sehingga mengganggu pembentukan dinding sel.

2. Mengubah Protein dan Asam Nukleat

Protein dan asam nukleat memiliki pengaruh yang penting pada proses kelangsungan hidup sel. Gangguan dalam bentuk apa pun pada saat proses

sintesis senyawa tersebut dapat menyebabkan pada sel. Bahan antibakteri mampu mendenaturasi protein dan asam nukleat sehingga akan merusak sel.

3. Mengubah Permeabilitas Sel

Bakteri memiliki sitoplasma yang dilapisi oleh membran sel yang bersifat selektif permeabel. Membran ini terdiri dari fosfolipid dan protein. Membran sitoplasma berfungsi untuk mengatur keluar masuknya bahan-bahan di dalam sel. Adanya bahan antibakteri, fungsi membran sel akan terganggu, sehingga akan menghambat pertumbuhan sel dan mengakibatkan sel mati.

4. Menghambat Kerja Enzim

Antibakteri akan menghambat enzim-enzim yang bekerja selama proses metabolisme dan mengganggu aktivitas sel bakteri sehingga menyebabkan sel bakteri hancur dan mati.

5. Menghambat Sintesis DNA, RNA, dan Protein

Protein, DNA, dan RNA memegang peran penting di dalam proses metabolisme sel. Apabila senyawa antibakteri menghambat DNA, RNA, dan protein, maka pembentukan komponen sel akan terhambat sehingga proses metabolisme sel akan terganggu. Senyawa antimikroba merupakan bahan yang dapat mengganggu proses metabolisme mikroba. Tujuan penggunaan antimikroba adalah untuk mengendalikan mikroba, yaitu segala kegiatan yang dapat menghambat dan membasmi mikroba.

2.6 Jerawat

Jerawat (*Acne vulgaris*) merupakan penyakit yang dipengaruhi kelenjar minyak di kulit. Kulit memiliki pori-pori kecil yang terhubung dengan kelenjar minyak di bawahnya, yang menghasilkan sebum atau zat berminyak. Sel kulit mati

dibawa ke permukaan kulit oleh minyak yang terkandung di dalam folikel. Folikel yang tersumbat, dapat menimbulkan jerawat pada permukaan kulit. Jerawat dapat muncul diarea wajah, bahu, punggung, leher, dan dada (Kusbianto *et al*, 2017). Jerawat menjadi penyakit paling umum di seluruh dunia dengan urutan ke delapan dikarenakan diperkirakan menyerang 9,4% populasi di dunia dan menyerang 90% remaja dan dewasa muda (Espinoza-Turcios *et al.*, 2023). Hasil penelitian Wibawa (2019) menyatakan bahwa pasien penderita jerawat di Rumah Sakit Umum Indera Denpasar sebagian besar berada dalam kelompok usia 15-24 tahun, yaitu sebanyak 39 orang (59,1%), sedangkan kelompok usia diatas 44 tahun memiliki jumlah penderita paling sedikit, yaitu 2 orang (3,0%). Timbulnya jerawat dapat diakibatkan faktor luar (eksogen) dan faktor dari dalam tubuh (endogen), berikut penjelasan mengenai faktor-faktor penyebab jerawat:

1) Genetik

Jerawat dapat dikarenakan faktor genetik, pada penderita terjadi peningkatan respon unit pilosebaceus terhadap kadar normal androgen dalam darah. Selain itu, adanya gen tertentu (CYP17-34C/C *homozigot Chinese men*) dalam sel tubuh manusia, meningkatkan terjadinya jerawat (Afriyanti, 2015).

2) Faktor Hormonal

Wanita mengalami lesi acne menjadi lebih aktif kurang lebih satu minggu sebelum haid oleh karena hormon progesteron. Estrogen dalam kadar tertentu dapat menekan pertumbuhan jerawat karena menurunkan kadar gonadotropin yang berasal dari kelenjar hipofisis. Hormon Gonadotropin mempunyai efek dapat menurunkan produksi sebum. Progesteron dalam jumlah fisiologis tidak mempunyai efek terhadap efektifitas terhadap kelenjar lemak. Produksi sebum

tetap terjadi selama siklus menstruasi, akan tetapi terkadang progesteron menyebabkan *acne premenstrual* (Afriyanti, 2015).

3) Makanan

Makanan-makanan tinggi lemak (gorengan, kacang, susu, keju, dan sejenisnya), tinggi karbohidrat (makanan manis, coklat, dan sebagainya), alkohol, makanan pedas, dan makanan tinggi yodium (garam) dapat memperparah jerawat. Hal ini dikarenakan makanan dengan kadar index glikemik tinggi, dapat memicu fluktuasi atau naik turunnya hormon, salah satunya adalah hormon insulin yang mendorong kemunculan sebum, sehingga dapat menimbulkan jerawat (Hasan *et al.*, 2015)

4) Faktor produk kecantikan atau kosmetik

Produk kecantikan yang mengandung bahan komedogenik seperti lanolin, petrolatum, minyak atsiri dan bahan kimia murni (asam oleik, butil stearat, lauril alkohol, bahan pewarna (D&C) biasanya terdapat pada krim-krim wajah. Apabila bahan yang bersifat hidrofobik tersebut terakumulasi di dalam folikel kulit maka folikel akan tersumbat sehingga sebum yang diproduksi oleh kelenjar sebacea terperangkap di dalam folikel dan memicu reaksi peradangan yang berakhir pada munculnya jerawat (Maharani *et al.*, 2021).

5) Faktor infeksi dan trauma

Peradangan dan infeksi pada folikel pilosebacea terjadi karena adanya peningkatan jumlah dan aktivitas flora folikel yang terdiri dari *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pityrosporum ovale*, dan *Corynebacterium Acnes*. Bakteri-bakteri tersebut berperan dalam proses kemotaksis inflamasi dan pembentukan enzim lipolitik yang mengubah fraksi

lipid sebum. *Propionibacterium acnes* berperan dalam iritasi epitel folikel dan mempermudah terjadinya jerawat. Selain itu, adanya trauma fisik atau acne mekanika berupa gesekan, tekanan, peregangan, garukan, dan cubitan pada kulit dapat merangsang timbulnya jerawat (Afriyanti, 2015).

6) Kondisi Kulit

Kondisi kulit juga berpengaruh terhadap jerawat, jenis kulit yang berhubungan dengan jerawat adalah kulit berminyak dikarenakan kulit berminyak yang kotor diakibatkan polusi udara ataupun sel-sel kulit mati yang tidak dibersihkan dapat menyebabkan penyumbatan pada saluran kelenjar sebasea dan dapat menimbulkan jerawat (Afriyanti, 2015). Menurut Jianting Yang *et al.* (2020) menyatakan bahwa tingkat sebum wajah lebih banyak pada populasi berjerawat dibandingkan tanpa jerawat. Sekresi sebum yang berlebihan ditandai dengan kulit berminyak atau bercampur. Secara epidemiologi kulit berminyak dan jenis kulit campuran merupakan faktor risiko timbulnya jerawat.

7) Faktor lingkungan kerja

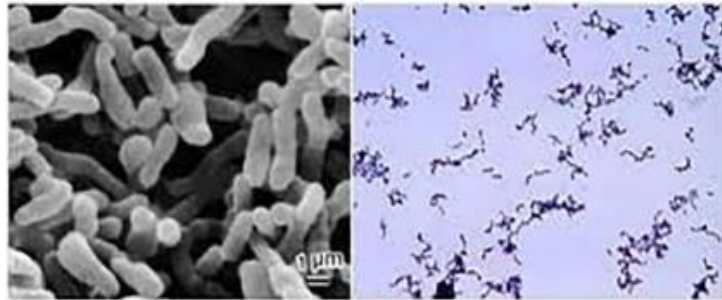
Penderita jerawat juga banyak ditemukan pada karyawan pabrik yang selalu terpapar bahan-bahan kimia seperti oli dan debu-debu logam. *acne vulgaris* ini biasa disebut “*Occupational Acne*” (Afriyanti, 2015).

8) Faktor psikis

Penderita yang mengalami stres dan gangguan emosi akan mengakibatkan HPA (*Hipotalamus Pituitari Axis*) menjadi aktif yang membuat konsentrasi ACTH (*Adrenocorticotrophic hormone*) dan glukokortikoid menjadi meningkat secara berkepanjangan. Konsentrasi ACTH yang meningkat akan membuat hormon androgen meningkat yang dapat memicu produksi sebum dan keratinosit.

Produksi sebum dan hiperkeratinosit yang tinggi dapat menimbulkan adanya jerawat. (Latifah & Evi, 2015).

2.7 Bakteri *Propionibacterium acnes*



Gambar 2.11. Morfologi Bakteri *Propionibacterium acnes*. Gambar kiri dilihat dari mikroskop electron dan gambar kanan bakteri *P. Acnes* pada media tioglikoat dengan perbesaran 100x (Nasution & Bahi., 2022)

Bakteri *Propionibacterium acnes* termasuk bakteri flora normal yang hidup di kulit dan termasuk bakteri Gram positif, tidak bersifat toksigenik. Bakteri *P. acnes* memiliki sifat yang anaerob yang toleran terhadap udara dan dapat menyebabkan infeksi pada jerawat. Morfologi bakteri *Propionibacterium acnes* yaitu memiliki bentuk batang atau basil, memiliki lebar 0,4-0,7 μm dengan panjang mencapai 3-5 μm , memiliki sitoplasma yang mengandung banyak ribosom dan peptidoglikan tebal. Suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri tersebut yaitu 30-37°C. Bakteri *Propionibacterium acnes* dapat menghasilkan lipase yang memecah trigliserida, salah satunya yaitu sebum diubah menjadi asam lemak bebas, karena berperan sebagai media yang baik bagi pertumbuhan bakteri ini. Akumulasi bakteri *P. acnes* dapat menyebabkan peradangan dan pembentukan komedo, yang kemudian memicu adanya jerawat. (Nasution & Bahi., 2022).

Menurut Zahrah *et al.* (2018) bakteri *Propionibacterium acnes* memiliki peranan penting dalam patogenesis *acne vulgaris* karena menghasilkan lipase yang memecah asam lemak bebas dari lipid yang dapat menyebabkan inflamasi pada

jaringan saat berinteraksi dengan sistem imun dan dapat terbentuknya jerawat. Asam lemak bebas tersebut berasal dari lipid. Klasifikasi dari *Propionibacterium acne* menurut Miratunnisa *et al.* (2017) sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria

Phylum : Actinobacteria

Class : Actinobacteria

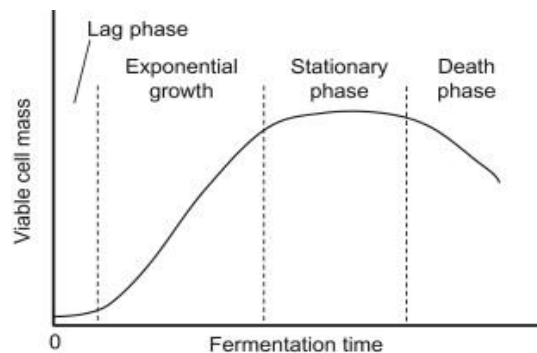
Order : Actinomycetales

Family : Propionibacteriaceae

Genus : Propionibacterium

Species : *Propionibacterium acnes*.

2.8 Kurva Pertumbuhan Bakteri



Gambar 2.12. Kurva Pertumbuhan Bakteri. (Christy, 2014)

Kurva pertumbuhan merupakan suatu informasi mengenai fase pertumbuhan bakteri, fase-fase pertumbuhan bakteri pada umumnya terdiri dari fase lag, eksponensial, stationer, dan fase kematian. Kurva pertumbuhan digunakan untuk mengetahui kecepatan pertumbuhan sel bakteri serta pengaruh lingkungan terhadap kecepatan pertumbuhan (Jawetz *et al.*, 2013). Berikut penjelasan mengenai fase pada kurva pertumbuhan bakteri:

1. Fase Lag (Fase adaptasi)

Fase adaptasi adalah masa penyesuaian pada lingkungan yang baru dan lamanya dapat mencapai satu jam hingga beberapa hari. Lama waktu ini tergantung pada jenis atau macam bakteri, umur biakan, dan nutrient yang terdapat dalam medium yang disediakan. Pada fase adaptasi ini, enzim-enzim dan zat-zat antara terbentuk dan terkumpul sampai konsentrasinya memungkinkan untuk kelanjutan pertumbuhannya (Hakim, 2022).

2. Fase Eksponensial (Fase perbanyakan)

Fase eksponensial merupakan fase pertumbuhan kedua, yang dibuktikan dengan terjadinya periode pertumbuhan yang sangat cepat. Pertumbuhan bakteri pada fase eksponensial dipengaruhi oleh kondisi suhu, pH, nutrient dalam media dan sifat genetik mikroba. Fase eksponensial merupakan fase yang diperlukan mikroba untuk pembelahan sel atau penggandaan yang disebut dengan waktu generasi (Risna *et al.*, 2022). Pada fase eksponensial produksi senyawa yang dihasilkan oleh sel bakteri terbentuk, karena senyawa tersebut merupakan senyawa yang disekresi oleh sel bakteri, antara lain etanol, asam laktat, asam amino dan asam organik lainnya (Hakim, 2022).

3. Fase Stasioner

Fase stasioner terjadi ketika nutrisi pada media semakin sedikit atau ketika adanya akumulasi produk sampingan lain yang menghambat pertumbuhan bakteri. Pada fase stasioner tidak terdapat penurunan atau kenaikan, jumlah sel yang signifikan sehingga laju pertumbuhan biakan adalah nol, karena jumlah sel yang membelah dan sel yang mati hampir sama. Tetapi meskipun tidak

terdapat pertumbuhan yang signifikan proses biosintesis dan metabolisme energi sel tetap berlangsung (Wahyuningsih & Zulaika, 2019).

4. Fase Death (Fase kematian)

Laju kematian apabila melampaui laju pertumbuhan, maka jumlah bakteri akan berkurang. Kematian bakteri dapat diakibatkan berbagai factor. Penyebab utama kematian adalah autolisis sel dan penurunan energi seluler karena kehabisan cadangan makanan di dalam sel. Pada fase kematian, biasanya pembiakan bakteri berhenti untuk spesies bakteri tertentu. Hal tersebut berlangsung berminggu-minggu atau dapat bertahun-tahun. Ada bakteri yang dapat tumbuh karena mendapatkan makanan dari bakteri-bakteri yang mati dan mengalami lisis. Beberapa bakteri bahkan mampu bertahan sampai puluhan tahun sebelum mati dengan mengubah sel menjadi spora. Angka kematian bakteri berbeda-beda tergantung lingkungan dan jenis bakterinya (Hakim, 2022).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini termasuk eksploratif dengan metode analisis secara deskriptif kualitatif dan kuantitatif. Deskriptif kualitatif berupa hasil isolasi dan identifikasi bakteri endofit dari rimpang temulawak. Bagian tumbuhan yang digunakan yaitu rimpang, dan dilakukan uji metabolit sekunder yang dihasilkan oleh bakteri endofit tersebut. Deskripsi kuantitatif dilakukan untuk menentukan diameter zona hambat, konsentrasi hambat minimum (KHM), dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*.

3.2 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Biologi Molekuler Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Selain itu, identifikasi MALDI-TOF MS di Balai Besar Laboratorium Surabaya (BBLK). Penelitian dilakukan pada bulan Januari 2024-Mei 2024.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah isolat bakteri endofit dari rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*).

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah pengamatan makroskopik dan mikroskopik, zona hambat, uji fitokimia, uji KHM, dan uji KBM.

3.3.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah waktu inkubasi, suhu inkubasi, media isolat bakteri endofit yang diisolasi dari rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*), dan media isolat bakteri uji berupa bakteri *Propionibacterium acnes*.

3.4 Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu autoklaf, erlenmeyer, timbangan analitik, spatula, hotplate, beaker glass, *magnetic stirrer*, gelas ukur, lemari es, cawan petri, microplate 96 wells, pisau, *laminar air flow* (LAF), mortar, tabung reaksi, pinset, rak tabung reaksi, inkubator, ose, bunsen, korek api, microtube, sentrifuse, vortex, cotton swab, *colony counter*, mikropipet, blue tip, yellow tip, mikroskop, objek glass, spektrofotometri, elektroforesis, shaker, jangka sorong, dan alat MALDI-TOF VITEKS® MS tipe BioMérieux.

3.4.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan adalah aluminium foil, kapas, plastic wrap, plastik, kain kasa, Nutrient Agar (NA), Nutrient Broth (NB), Mueller Hinton Agar (MHA), Mueller Hinton Broth (MHB), kertas bekas, air mengalir, rimpang temulawak, alkohol 70%, NaClO 5,25%, kristal violet, iodium, alkohol 96%, safranin, aquades, nistatin, matriks VITEKS® MS-CHCA, asam sulfat (H₂SO₄) 1%, isolat murni *Propionibacterium acnes*, NaCl fisiologi 0,9%, dimetil sulfoksida (DMSO),

clindamicin, aquadest steril, natrium hidroksida (NaOH) encer, asam klorida, kloroform amoniak, asam asetat anhidrat, asam sulfat pekat, dan reagen mayer.

3.5 Prosedur penelitian

3.5.1 Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat dilakukan dengan cara membungkus alat (hanya alat yang dapat dibungkus) menggunakan aluminium foil atau kertas untuk membungkus cawan petri. Alat-alat yang akan digunakan dalam penelitian kemudian disterilkan dengan sterilisasi fisik menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit.

3.5.2 Pembuatan Media

3.5.2.1 Pembuatan Media Nutrient Agar (NA)

Media Nutrient Agar (NA) dibuat untuk mengkultur isolasi bakteri endofit dan peremajaan bakteri *P. acnes*. Media NA disiapkan dengan menimbang 20 gram dan larutkan dalam 1000 ml aquades. Campuran tersebut diaduk, dimasukkan *magnetic stirrer* dalam erlenmeyernya dan dipanaskan menggunakan hotplate pada suhu 70°C sampai larutan berwarna kuning jernih. Selajutnya media tersebut disterilisasi dalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Media yang telah steril dapat digunakan langsung atau disimpan dalam lemari pendingin sebelum digunakan (Fatisa, 2013).

3.5.2.2 Pembuatan Media Nutrient Broth (NB)

Nutrient Broth (NB) dibuat untuk menumbukan bakteri endofit dalam media cair. Media NB disiapkan dengan menimbang sebanyak 8 gram, dan larutkan dalam 1000 ml aquades. Campuran tersebut diaduk, dimasukkan *magnetic stirrer* dalam

erlenmeyernya dan dipanaskan menggunakan hotplate pada suhu 70°C sampai larutan tercampur rata. Selanjutnya media tersebut disterilisasi dalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Media yang telah steril dapat digunakan langsung atau disimpan dalam lemari pendingin sebelum digunakan (Yevani *et al.*, 2023).

3.5.2.3 Pembuatan Media Mueller Hinton Agar (MHA)

Mueller Hinton Agar (MHA) dibuat untuk uji antibakteri dan uji konsentrasi bunuh minimum (KBM). Media MHA disiapkan dengan menimbang sebanyak 38 gram, dan larutkan dalam 1000 ml aquades. Campuran tersebut diaduk, dimasukkan *magnetic stirrer* dalam erlenmeyernya dan dipanaskan menggunakan hotplate pada suhu 70°C sampai larutan tercampur rata. Selanjutnya media tersebut disterilisasi dalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Media yang telah steril dapat digunakan langsung atau disimpan dalam lemari pendingin sebelum digunakan (Mulqie *et al.*, 2022).

3.5.2.4 Pembuatan Media Mueller Hinton Broth (MHB)

Mueller Hinton Broth (MHB) dibuat untuk uji konsentrasi hambat minimum (KHM). Media MHB disiapkan dengan menimbang sebanyak 21 gram, dan larutkan dalam 1000 ml aquades. Campuran tersebut diaduk, dimasukkan *magnetic stirrer* dalam erlenmeyernya dan dipanaskan menggunakan hotplate pada suhu 70°C sampai larutan tercampur rata. Selanjutnya media tersebut disterilisasi dalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Media yang telah steril dapat digunakan langsung atau disimpan dalam lemari pendingin sebelum digunakan (Mulqie *et al.*, 2022).

3.5.3 Isolasi Bakteri Endofit dari Rimpang Temulawak

Rimpang temulawak dibersihkan dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran di bagian permukaan, kemudian dikering anginkan dan ditimbang sebanyak 1 gram (Fallo *et al.*, 2019). Selanjutnya dilakukan sterilisasi permukaan pada sampel di dalam LAF. Sampel rimpang temulawak dilakukan sterilisasi permukaan dengan cara merendamnya berurut menggunakan alkohol 70% selama 1 menit, kemudian natrium hipoklorit (NaClO) 5,25% selama 3 menit, dan aquadest steril sebagai bilasan sebanyak 3 kali untuk menghilangkan residu disinfektan. Sampel rimpang temulawak yang telah steril, diletakkan di atas tissue dalam cawan petri steril dan dikeringkan anginkan. Aquades bilasan terakhir dari sterilisasi permukaan dijadikan sebagai kontrol untuk konfirmasi keberhasilan sterilisasi permukaan, dengan dimasukkan bersama media NA ke dalam cawan petri (Wulansari *et al.*, 2019).

Rimpang temulawak yang sudah disterilisasi permukaan ditanam pada media NA dengan penambahan nistatin 1 gram / 1 liter, kemudian cawan petri dimasukkan dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Bakteri yang tumbuh akan dimurnikan dengan metode *streak plate*. Bakteri yang tumbuh dengan koloni terpisah diambil menggunakan jarum ose secara aseptis, kemudian diinokulasi ke media NA, dan dimasukkan dalam incubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Proses ini diulangi secara berulang hingga didapatkan kultur murni yang terdiri dari koloni tunggal (Nursulistyarini & Erny, 2014).

3.5.4 Identifikasi Bakteri Endofit Makroskopis dan Mikroskopis

Bakteri endofit yang murni dari isolasi rimpang temulawak, dilanjutkan identifikasi dengan pengamatan makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan secara

makroskopis dengan mengamati secara morfologi pada koloni bakteri di media NA berupa bentuk, tepian, elevasi, dan warna koloni (Afifah *et al.*, 2018).

Pengamatan mikroskopis dilakukan melalui pewarnaan Gram. Disiapkan gelas objek dengan dibersihkan dengan alkohol 70% dan difiksasi di atas lampu spirtus. Isolat bakteri diambil secara aseptik, diletakkan di atas gelas objek, dan diratakan (apusan). Dilakukan fiksasi kembali pada apusan di atas spirtus, setelah dingin ditetesi dengan cat Gram A (kristal violet) didiamkan selama 60 detik, lalu dibilas dengan aquades dan dikeringkan. Dilanjutkan dengan pemberian larutan cat Gram B (iodium) didiamkan selama 60 detik, kemudian dibilas dengan aquades, dan dikeringkan. Selanjutnya, ditetaskan dengan larutan decolorizer Gram C (alkohol 96%) didiamkan selama 30 detik, dibilas dengan aquades, dan dikeringkan. Terakhir ditetesi larutan cat Gram D (safranin) didiamkan selama 45 detik, dibilas dengan aquades. Apabila apusan ada kelebihan air, dapat dihilangkan dengan kertas serap, dan dikeringkan. Apusan yang sudah dilakukan pewarnaan Gram, dilihat dengan mikroskop untuk mengamati bentuk dan warna sel dengan perbesaran tertentu (Abna & Ayu, 2023).

3.5.5 Ekstraksi Isolat Bakteri Endofit

Isolat bakteri endofit diambil dengan ose sebanyak dua kali dan dimasukkan ke media NB sebanyak berisi 100 ml dalam erlenmeyer, selanjutnya isolat diinkubasi dengan alat *rotaring shaker* pada kecepatan 150 rpm dan suhu 37°C selama 24 jam. Pengamatan dilakukan menggunakan alat spektrofotometer setiap 2 jam sekali dengan mengukur nilai *optical density* (OD) pada panjang gelombang 600 nm (Ramadhanty *et al.*, 2021). Isolat bakteri endofit yang sudah mencapai fase stasioner dimasukkan ke microtube ukuran 1,5 ml dan dilakukan sentrifugasi

dengan kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit. Supernatan yang dihasilkan kemudian dipindahkan ke microtube yang baru dan dapat digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri (Ramadhanty *et al.*, 2021).

3.5.6 Peremajaan Bakteri *Propionibacterium acnes*

Bakteri *P. acnes* diambil dari kultur murni menggunakan ose dilakukan secara aseptis, lalu diinokulasikan pada media NA. Selanjutnya, diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam (Deswita *et al.*, 2021).

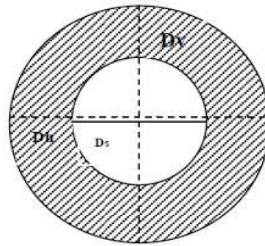
3.5.7 Uji Aktivitas Daya Hambat Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*

Uji daya hambat dilakukan menggunakan teknik sumuran dan media yang digunakan adalah media MHA (Mueller Hinton Agar). Bakteri patogen yang telah diremajakan diambil menggunakan ose sebanyak 1 kali. Kemudian, bakteri tersebut dimasukkan kedalam larutan NaCl fisiologi 0,9% sebanyak 9 ml pada tabung reaksi, selanjutnya sampel divortex sampai tercampur, dan disamakan dengan cairan standar McFarland (Zulkifli *et al.*, 2016). Bakteri *Propionibacterium acnes* yang telah disiapkan dalam bentuk suspensi diswab pada cawan petri yang terdapat media MHA, kemudian dibuat lubang sumuran menggunakan tip kuning yang steril (Alhayyu *et al.*, 2022). Dimasukkan supernatant sebesar $\pm 50 \mu\text{l}$ pada setiap lubang sumurannya (Zulkifli *et al.*, 2016). Kontrol positif dalam penelitian ini menggunakan obat clyndamicin dan control negatif menggunakan aquades steril. Selanjutnya disimpan dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C, setelah diinkubasi dilihat pertumbuhan bakteri patogen dan diukur diameter zona hambatnya menggunakan jangka sorong (Deswita *et al.*, 2021).

3.5.8 Pengukuran Zona Hambat

Zona bening menunjukkan sensitivitas bakteri patogen terhadap agen antibakteri yang diujikan dan dinyatakan dengan diameter zona hambat. Disekitar sumuran yang terbentuk zona bening, diukur secara vertikal serta horizontal kemudian dinyatakan dalam milimeter (mm) (Paliling *et al.*, 2016) Pengukuran diameter zona hambat menurut Paliling *et al.* (2016) dapat dilakukan dengan menggunakan rumus berikut ini:

$$\text{Zona Hambat} = \frac{(D_v - D_s) + (D_h - D_s)}{2}$$



Gambar 3.1. Pengukuran Zona Hambat. (Paliling *et al.*, 2016)

Keterangan: D_v : Diameter vertikal
 D_s : Diameter sumur
 D_h : Diameter horizontal

Tabel 3.1 Kategori Daya Hambat Antimikroba (Fachriyah *et al.*, 2020)

Diameter Zona Bening	Daya Hambat
≤ 5 mm	Lemah
6-10 mm	Sedang
11-20 mm	Kuat
≥ 21 mm	Sangat Kuat

3.5.9 Uji Fitokimia

Metode uji fitokimia metabolit sekunder dilakukan sebagai berikut:

1. Uji Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan mengambil larutan sampel, kemudian dicampurkan pereaksi NaOH encer. Hasil positif adanya flavonoid yaitu menghasilkan warna kuning di dalam tabung reaksi tersebut (Lindawati & Sabilla, 2020).

2. Uji Alkaloid

Uji alkaloid dilakukan dengan diambil ekstrak isolat bakteri, ditambahkan beberapa tetes pereaksi mayer dalam tabung reaksi. Adanya reaksi positif kandungan alkaloid jika terbentuk endapan putih (Fajarullah *et al*, 2014).

3. Uji Saponin

Uji saponin dilakukan dengan mengambil sampel ekstrak bakteri sebanyak 2 ml, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Setelah itu, ditambahkan 10 ml air suling, dan tabung tersebut dikocok selama 30 detik. Perubahan yang terjadi diamati, dan jika terbentuk busa yang tidak menghilang selama 30 detik, hal ini menunjukkan keberadaan kandungan saponin (Fajarullah *et al*, 2014).

4. Uji Steroid dan Terpenoid

Sampel diambil dengan pipet tetes, dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian dilarutkan dengan 2 ml kloroform, ditambah 10 tetes anhidrat asetat dan 3 tetes asam sulfat pekat. Hasil positif adanya terpenoid ditunjukkan dengan perubahan larutan berwarna merah untuk pertama kali, kemudian berubah menjadi biru dan hijau untuk reaksi positif adanya steroid (Fajarullah *et al*, 2014).

3.5.10 Uji Konsentrasi Hambat Minimum dan Bunuh Minimum

Pengujian KHM dimulai dengan menyiapkan inokulum bakteri uji. Diambil satu ose bakteri secara aseptis, dimasukkan dalam larutan 9 ml NaCl 0,9%. Kemudian, disamakan kekeruhannya dengan larutan standar McFarland 0,5. Uji KHM dilakukan menggunakan sumuran mikro plate 96-wells (Handayani *et al.*, 2023). Seri konsentrasi yang digunakan adalah 100%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25% (Zahrah *et al.*, 2018). Setiap konsentrasi dibuat 3 kali ulangan. Sumuran kolom ke 1 dijadikan sebagai kontrol positif yang berisi bakteri *P. acnes* dan obat clyndamicin. Sumuran kolom 4 sampai 8 sebagai kontrol pertumbuhan yang diisi ekstrak bakteri endofit, bakteri *P. acnes*, dan media. Sumuran kolom 11 berisi media NB dan MHB sebagai kontrol media, dan sumuran kolom 12 sebagai kontrol negatif yang berisi bakteri media MHB, dan DMSO. Mikroplate diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah inkubasi, kejernihan pada masing-masing sumuran diamati. Nilai KHM didapatkan dari pengamatan sumuran yang jernih pada konsentrasi terendah ekstrak bakteri endofit (Handayani *et al.*, 2023).

Pengujian KBM menggunakan teknik swab bakteri, dengan menginokulasikan hasil uji KHM yang jernih pada cawan petri yang berisi media *mueller hinton agar* (MHA), kemudian diinkubasi selama 24 jam, dan dilakukan penghitungan jumlah koloni dengan *colony counter* (Handayani *et al.*, 2023).

3.5.11 Identifikasi MALDI-TOF MS

Identifikasi menggunakan metode VITEK MALDI-TOF MS tipe bioMérieux dengan cara diambil koloni bakteri menggunakan ose, dibuat apusan bakteri pada target maldi dan dipastikan apusan tersebut berada dalam lingkaran target (Patel, 2019). Menurut Singhal (2015) untuk jenis bakteri positif

ditambahkan formic acid 70% untuk dapat melarutkan membran luar bakteri, didiamkan selama 2-3 menit hingga kering. Ditambahkan 1 μ L matriks VITEK (R) MS Cyano4-Hydroxycinnamic Acid (CHCA) pada bagian yang terdapat isolatnya dan didiamkan sampai kering. Slide dikeringkan hingga sampel dan matriksnya membentuk kristal. Pada layar monitor masuk ke Windows® di PC, dibuka perangkat lunak Acquisition Station. Diklik tombol open, kemudian letakkan slide target di adaptor. Pindai barcode slide target, dimasukkan adaptor dengan slide ke dalam instrument, dan diklik tombol start untuk memulai. Apabila pengujian selesai, klik tombol open dan simpan atau buang slide sesuai dengan prosedur. Hasil jenis bakteri yang didapatkan akan muncul sesuai spektrum rasio masa berdasarkan database software alat tersebut.

3.5.12 Analisis Data

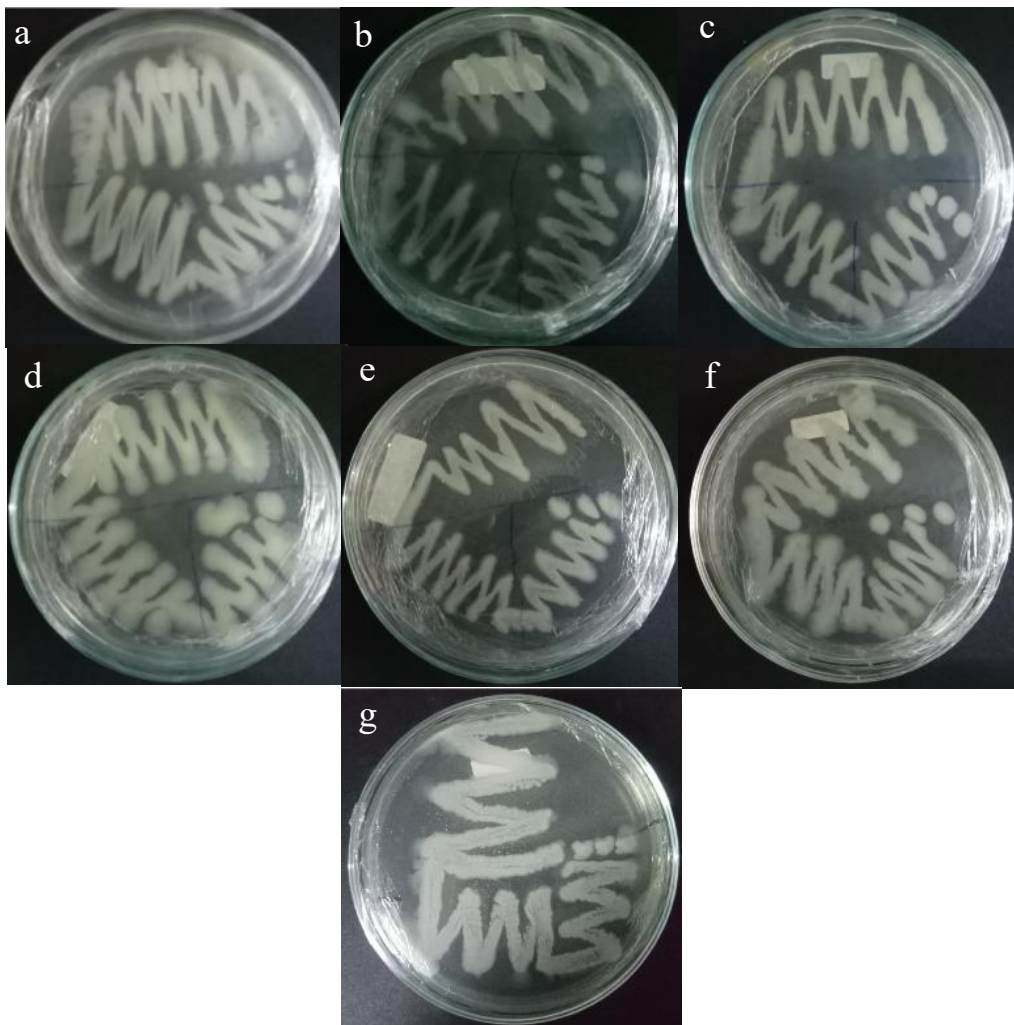
Data yang diperoleh dianalisis secara kualitatif berupa hasil identifikasi makroskopis, mikroskopis, uji fitokimia, dan MALDI-TOF MS dari bakteri endofit rimpang temulawak. Analisis kuantitatif dilakukan untuk menentukan diameter zona hambat, konsentrasi hambat minimum (KHM), dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*. Data disajikan dalam bentuk tabel dan gambar yang akan disesuaikan dengan literatur yang ada.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Karakter Morfologi Makroskopis dan Mikroskopis Isolat Bakteri Endofit dari Rimpang Temulawak

Hasil dari isolasi bakteri endofit dari rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*), yang ditumbuhkan dan dimurnikan 4 kali pada media padat nutrient agar (NA). Hasil isolasi didapatkan tujuh isolat bakteri endofit yang berbeda dari rimpang temulawak yang terdapat di gambar 4.1.



Gambar 4.1 Isolat Bakteri Endofit Rimpang Temulawak. (a) ISTL I 1, (b) IST I 1, (c) IST I 2, (d) IST I 4, (e) IST II 2, (f) IST II 3, dan (g) IST II 4

Isolat bakteri endofit dari rimpang temulawak selanjutnya diidentifikasi secara makroskopis dan mikroskopis. Hasil identifikasi secara makroskopis ditunjukkan pada tabel 4.2.

Tabel 4.1 Pengamatan Makroskopik Bakteri Endofit

Isolat	Morfologi			
	Bentuk	Tepian	Warna	Permukaan
ISTL I 1	Irregular	Entire	Putih	Rata
IST I 1	Circular	Undulate	Putih	Rata
IST I 2	Circular	Entire	Putih	Rata
IST I 4	Irregular	Undulate	Putih	Rata
IST II 2	Irregular	Undulate	Putih	Rata
IST II 3	Circular	Entire	Putih	Rata
IST II 4	Circular	Undulate	Putih	Rata

Berdasarkan hasil pengamatan makroskopis bakteri endofit dari rimpang temulawak tujuh isolat yang ditemukan bahwa isolat ISTL I 1, IST I 4, dan IST II 2 memiliki bentuk koloni yang sama yaitu tidak berpola (irregular), sedangkan isolat lainnya memiliki bentuk yang circular (bulat). Isolat IST I 1, IST I 4, IST II 2, dan IST II 4 memiliki bentuk tepi yang bergelembung (undulate), sedangkan isolat lainnya memiliki tepi rata (entire). Tujuh isolat bakteri endofit memiliki warna koloni putih, dan permukaannya yang sama rata.

Bakteri endofit yang sudah diidentifikasi makroskopis kemudian diidentifikasi mikroskopis dengan pewarnaan Gram untuk menentukan jenis bakteri Gram dan bentuk selnya. Hasil pengamatan mikroskopis ada pada tabel 4.3 dan lampiran 5.2.

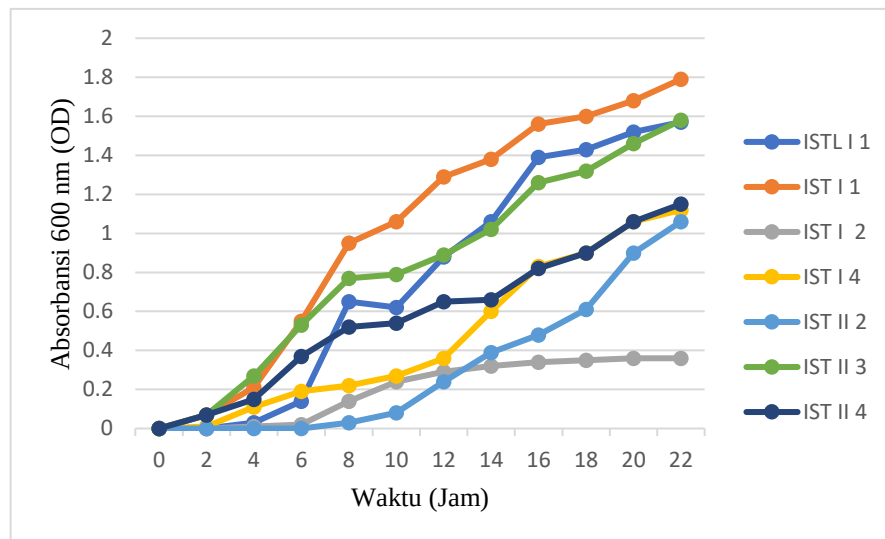
Tabel 4.2 Pengamatan Mikroskopik Bakteri Endofit

No.	Isolat	Pewarnaan Gram	Bentuk Sel
1.	ISTL I 1	Positif	Basil
2.	IST I 1	Positif	Basil
3.	IST I 2	Positif	Basil
4.	IST I 4	Negatif	Coccus
5.	IST II 2	Positif	Basil
6.	IST II 3	Negatif	Basil
7.	IST II 4	Negatif	Coccus

Berdasarkan hasil pengamatan mikroskopis pada bakteri endofit yang telah dilakukan menunjukkan isolat bakteri ISTL I 1, IST I 1, IST I 2, dan IST II 2 termasuk bakteri Gram positif dikarenakan hasil pewarnaannya berwarna ungu, sedangkan isolat IST I 4, IST II 3, dan IST II 4 termasuk bakteri Gram negatif karena hasil pewarnaan merah. Hal ini sesuai dengan pernyataan Wulandari & Desi (2019) bahwa bakteri Gram negatif menunjukkan sel yang berwarna merah, sedangkan bakteri Gram positif menunjukkan sel yang berwarna ungu. Perbedaan hasil pewarnaan disebabkan perbedaan komponen yang membentuk dinding sel bakteri Gram positif dan negatif. Bakteri Gram positif mampu mempertahankan warna kristal violet karena memiliki kandungan peptidoglikan yang tebal dalam dinding selnya. Sedangkan, bakteri Gram negatif tidak dapat mempertahankan warna kristal violet karena lapisan lipoprotein dalam dinding selnya larut ketika terkena etanol selama proses pewarnaan, sehingga ketika diwarnai dengan safranin akan berwarna merah. Hasil pengamatan mikroskopis terhadap bentuk sel pada bakteri endofit menunjukkan isolat bakteri ISTL I 1, IST I 1, IST I 2, IST II 2, dan IST II 3 memiliki bentuk basil (batang), sedangkan isolat bakteri IST I 4 dan IST II 4 memiliki bentuk sel coccus.

4.2 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Endofit dari Rimpang Temulawak Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*

4.2.1 Kurva Pertumbuhan Bakteri



Gambar 4.2 Kurva Pertumbuhan Isolat Bakteri Endofit

Hasil kurva pertumbuhan yang didapat memperlihatkan isolat bakteri endofit ISTL I 1 berada di fase log sampai pada jam ke-4, isolat IST I 4 fase log sampai pada jam ke-2, sedangkan isolat IST I 2 fase log sampai jam ke-6, dan IST II 2 sampai jam ke-8. Fase log merupakan fase adaptasi bakteri terhadap lingkungan baru dan lamanya dapat mencapai satu jam hingga beberapa hari. Lama waktu ini tergantung pada jenis atau macam bakteri, umur biakan, dan nutrisi yang terdapat dalam medium yang disediakan (Hakim, 2022).

Isolat bakteri endofit ISTL I 1 memasuki fase eksponensial pada ke-6, isolat IST I 2 jam ke-8 sudah memasuki eksponensial, isolat IST I 4 masuk fase stationer jam ke-4, isolat IS II 2 fase eksponensial terjadi pada jam ke-10. Fase eksponensial atau fase pertumbuhan ditandai pertumbuhannya yang cepat, karena terjadi pembelahan atau penggandaan. Fase ini dipengaruhi kondisi suhu pH, nutrisi dalam media, dan jenis mikroba (Risna *et al.*, 2022).

Isolat bakteri endofit yang sudah memasuki fase stationer yaitu isolat IST I 2 terjadi pada jam ke-16, sedangkan untuk isolat bakteri endofit lainnya hingga jam-22 masih mengalami fase eksponensial atau perbanyakan sel. Menurut Mahjani & Dwi (2020) bahwa setiap bakteri memiliki waktu yang berbeda pada masing-masing fase pertumbuhannya. Menurut Sadikin *et al.* (2021) bahwa fase stasioner terjadi ketika nutrisi yang dibutuhkan habis oleh bakteri dalam pertumbuhannya. Hal ini ditandai dengan diproduksi senyawa yang menyebabkan beberapa sel bakteri mati, sedangkan sel lainnya tumbuh dan membelah sehingga sel yang hidup jumlahnya tetap atau seimbang. Menurut Khoiriyah & Puji (2014) bahwa pada fase stationer bakteri akan menghasilkan metabolit sekunder untuk pertahanan diri terhadap lingkungannya dari mikroorganisme lain.

4.2.2 Aktivitas Daya Hambat Terhadap *Propionibacterium acnes*

Hasil uji zona hambat dari bakteri endofit yang telah diisolasi dari rimpang temulawak menggunakan metode sumuran dapat dilihat pada tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil Uji Aktivitas Daya Hambat

Kode Isolat	Diameter Zona Hambat		
	Rata-Rata (mm)	Standar Daya Hambat (mm)	Keterangan
ISTL I 1	5.2	≤ 5 = lemah	Sedang
IST I 1	2.6	5-10 = sedang	Lemah
IST I 2	0	10-20 = kuat	Tidak Menghambat
IST I 4	0	≥ 21 = sangat kuat	Tidak Menghambat
IST II 2	0	(Fachriyah <i>et al.</i> , 2020)	Tidak Menghambat
IST II 3	7,4		Sedang
IST II 4	0		Tidak Menghambat
Kontrol +	44,4		Sangat Kuat
Kontrol -	0		Tidak Menghambat

Keterangan: K+: Clindamycin (antibiotik), K-: Aquades

Hasil dari uji aktivitas antibakteri daya hambat bakteri endofit terhadap bakteri *P. acnes*, seperti yang terdapat pada tabel 4.4, menunjukkan bahwa terdapat tiga isolat bakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. acnes*. Isolat ISTL I 1 memiliki rata-rata zona hambat sebesar 5,2 mm dengan kategori sedang, sementara isolat IST II 3 memiliki rata-rata zona hambat sebesar 7,4 mm, juga dengan kategori sedang. Isolat IST I 1 menunjukkan rata-rata zona hambat sebesar 2,6 mm dengan kategori lemah. Kontrol positif yang menggunakan clindamycin dalam pengujian daya hambatnya menunjukkan zona bening sebesar 44,4 mm, diklasifikasikan sebagai sangat kuat.

Aktivitas daya hambat dengan terbentuknya zona bening disebabkan oleh adanya interaksi antara senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh bakteri endofit dengan sel bakteri *P. acnes*. Interaksi tersebut kemungkinan mempengaruhi proses sintesis dinding sel dan permeabilitas membran sel bakteri *P. acnes* terganggu (Yunita *et al.*, 2022). Bakteri *P. acnes*, termasuk bakteri Gram positif yang memiliki dinding sel yang lebih sederhana, tersusun dari peptidoglikan dengan ketebalan sekitar 40-80 nm, sekitar 2% lipid, dan asam teikoat. Karakteristik ini membuat senyawa antibakteri yang dihasilkan oleh bakteri endofit lebih mudah menembus ke dalam sel bakteri tersebut, sehingga bakteri Gram positif lebih rentan terhadap senyawa antibakteri (Malanovic & Lohner, 2016). Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi kecepatan difusi senyawa antibakteri meliputi kandungan media, jumlah mikroba, waktu inkubasi, dan suhu (Naibaho *et al.*, 2023).

Kemampuan isolat bakteri endofit ISTL I 1 dan IST II 3 yang dapat menghambat bakteri uji dengan kategori sedang, tetapi berdasarkan kurva bakteri (Gambar 4.2) masih berada pada fase eksponensial, Hal ini dapat dikarenakan

bakteri tersebut memang sudah dapat menghasilkan senyawa metabolit. Menurut Idiawati *et al.* (2017) bahwa bakteri dapat mulai menghasilkan senyawa bioaktif setelah melewati fase logaritma menuju fase stasioner.

Isolat bakteri endofit yang tidak ada zona hambat pada bakteri uji dapat dikarenakan produksi senyawa antibakteri yang dihasilkan isolat endofit tersebut sedikit atau isolat endofit tersebut memang menghasilkan senyawa aktif lain yang belum teridentifikasi atau fungsinya dapat digunakan selain untuk antibakteri (Kusumawati *et al.*, 2014). Alasan lainnya dikarenakan dalam pembuatan ekstrak isolat bakteri endofit belum mencapai fase stationer (Gambar 4.2). Menurut Sadikin *et al.* (2021) bahwa fase stasioner terjadi ketika nutrisi yang dibutuhkan habis oleh bakteri dalam pertumbuhannya. Hal ini ditandai dengan diproduksi senyawa yang menyebabkan beberapa sel bakteri mati, sedangkan sel lainnya tumbuh dan membelah sehingga sel yang hidup jumlahnya tetap atau seimbang, selain itu pada fase ini bakteri telah memproduksi metabolit sekunder sebagai bentuk pertahanan diri terhadap kondisi mencekam. Kondisi mencekam pada bakteri dapat terjadi ketika kekurangan nutrisi, suhu yang tinggi, pH ekstrim, radiasi dan bahan-bahan kimia (Apriliani dan Enny, 2021).

Menurut Khoiriyah & Puji (2014) bahwa pada fase stationer bakteri akan menghasilkan metabolit sekunder untuk pertahanan diri terhadap lingkungannya dan mikroorganisme lain. Selain itu, isolat IST II 2 tidak mampu menghambat bakteri uji, hal ini dapat dikarenakan fase stationer awal sudah terlewatkan, sehingga kandungan senyawa pada ekstraknya tidak memberikan hasil hambatan. Menurut Rustini *et al.* (2022) bahwa jumlah metabolit sekunder terbanyak pada awal fase stationer atau akhir dari fase eksponensial.

Hasil zona hambat dapat juga dipengaruhi oleh senyawa yang terkandung dalam bakteri endofit tersebut. Faktor lain yang bisa memengaruhi variasi adalah adanya persaingan untuk mendapatkan nutrisi. Sumber nutrisi dalam tumbuhan inang yang terbatas, dapat menyebabkan isolat bakteri endofit memiliki respon yang berbeda untuk mempertahankan kelangsungan hidupnya, tetapi persaingan ini juga dapat mengganggu bakteri lainnya dalam memperoleh nutrisi yang cukup untuk bertahan hidup dan menjalankan aktivitas metabolisme. (Valentina *et al.*, 2018).

Kontrol positif clindamycin menunjukkan zona hambat yang paling kuat dibandingkan dengan semua sampel lainnya. yang diuji, hal ini menunjukkan kecocokan untuk dijadikan sebagai tolak ukur efektivitas antimikroba dalam penelitian ini. Menurut Novaryatiin S. (2016) bahwa obat clindamycin termasuk dalam golongan antibiotik lincosamide yang dapat bekerja secara bakteristatik atau bakterisida, hal ini sesuai pada konsentrasi obat di bagian yang terinfeksi dan organisme yang menyebabkan infeksi. Clindamycin termasuk antibiotik yang memiliki cakupan luas dan efektif terhadap bakteri Gram negatif anaerobic dan bakteri Gram positif aerobik. Mekanisme kerja clindamycin yaitu dengan menghambat sintesis protein bakteri melalui pengikatan pada subunit ribosom 50S, yang menyebabkan terhambatnya pembentukan ikatan peptide. Kontrol negatif aquades hasilnya tidak ada zona hambat yang terbentuk, yang menandakan bahwa aquades tepat digunakan sebagai kontrol negatif dalam penelitian ini. Menurut Gerung *et al.* (2021) aquades memiliki sifat netral, yang berarti tidak terdapat efek pertumbuhan bakteri dan tidak ada aktivitas antibakteri.

Hubungan simbiosis mutualisme antara bakteri endofit dengan tumbuhan inangnya dikarenakan bakteri endofit memperoleh nutrisi dari hasil metabolisme tumbuhan dan sekaligus melindungi tanaman dari patogen. Selain itu, tumbuhan juga memperoleh nutrisi tambahan dan senyawa aktif yang dibutuhkan untuk kelangsungan hidupnya dari bakteri endofit (Dalimunthe *et al.*, 2023). Isolat bakteri endofit yang didapat, mampu menghasilkan senyawa antibakteri yang serupa dengan senyawa yang ada pada rimpang temulawak karena dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder. Menurut Idiawati *et al.* (2017) bahwa bakteri dapat mulai menghasilkan senyawa bioaktif setelah melewati fase logaritma menuju fase stasioner.

Hasil uji fitokimia terhadap senyawa metabolit sekunder ekstrak bakteri sebagai berikut:

Tabel 4.4 Hasil Uji Fitokimia

Isolat Bakteri	Fitokimia				
	Endofit	Flavonoid	Alkaloid	Saponin	Steroid
ISTL I 1	+	+	+	-	-
IST II 3	+	+	+	-	-

Berdasarkan hasil uji fitokimia ekstrak isolat bakteri ISTL I 1 dan IST II 3, kedua isolat bakteri endofit memiliki kandungan metabolit yaitu flavonoid, alkaloid, dan saponin.

1. Flavonoid

Uji flavonoid terhadap dua isolat bakteri endofit menunjukkan bahwa keduanya memiliki kandungan flavonoid yang ditandai dengan perubahan warna menjadi kuning. Menurut Lindawati dan Sabilla (2020), perubahan warna kuning disebabkan oleh turunan senyawa flavonoid. Flavonoid mengalami penguraian oleh basa menjadi molekul seperti asetofenon yang

berwarna kuning karena ikatan pada struktur isoprene terputus. Hasil uji menunjukkan bahwa flavonoid memiliki peran aktif sebagai antibakteri. Flavonoid mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan merusak dinding sel, menonaktifkan kerja enzim, berikatan dengan adhesin, dan merusak membran sel. Cincin beta dan gugus –OH pada flavonoid diduga sebagai struktur yang berperan dalam aktivitas antibakteri (Nugraha, dkk., 2017).

Menurut Viando *et al.* (2023), mekanisme antibakteri flavonoid melibatkan tiga cara, yaitu dengan mengganggu fungsi membran sel, sintesis asam nukleat, dan metabolisme energi. Flavonoid dapat menyebabkan keluarnya sel intraseleuler karena kerusakan pada membran, yang diakibatkan oleh senyawa kompleks, protein terlarut, dan protein ekstraseluler. Selain itu, flavonoid dapat menghambat metabolisme energi dan sintesis DNA dengan pembentukan ikatan hydrogen. Proses penghambatan metabolisme energi oleh flavonoid terjadi melalui penghambatan sistem respirasi, yang memerlukan jumlah energi yang cukup untuk biosintesis makromolekul dan penyerapan aktif berbagai metabolit.

Temulawak memiliki kandungan senyawa khas yang dimiliki jenis curcuma yaitu kurkumonoid. Kurkuminoid merupakan senyawa yang termasuk dalam kelompok turunan flavonoid dan heptanoid. Fraksi senyawa ini memberikan warna kuning, rasa pahit, dan aroma khas yang terdapat pada rimpang temulawak (Kasiran, 2008). Kurkumonoid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Aktivitas antibakteri senyawa kurkuminoid bekerja dengan menghambat proses sitokinesis dan multiplikasi sel bakteri, menyebabkan

gangguan pada dinding dan membran sel bakteri, serta menyebabkan sel lisis (Mukti & Utamy, 2020).

Temulawak memiliki senyawa khas yaitu xanthorrhizol. Xanthorrhizol merupakan senyawa golongan fenol (Udin, 2013). Senyawa xanthorrhizol dan flavonoid memiliki kesamaan yakni berasal dari golongan fenolik. Xanthorrhizol memiliki aktivitas antibakteri, berinteraksi dengan sel bakteri melalui proses adsorpsi yang dibantu oleh ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen ini dapat mengubah permeabilitas membran sel bakteri, dan penetrasi fenol pada sel bakteri, sehingga menyebabkan koagulasi protein yang akan merusak membran sel bakteri (Rahman *et al.*, 2022).

2. Alkaloid

Uji alkaloid terhadap 2 isolat bakteri endofit, hasilnya keduanya memiliki kandungan alkaloid. Alkaloid adalah senyawa yang mengandung atom nitrogen dan memiliki sifat basa sehingga dalam mengekstraknya dibutuhkan penambahan asam klorida. Penambahan asam klorida untuk mengekstrak alkaloid yang bersifat basa dengan menggunakan larutan asam. Pengujian alkaloid dilakukan dengan menggunakan pereaksi mayer. Adanya kandungan alkaloid menggunakan pereaksi mayer ditandai dengan terbentuknya endapan putih hingga kekuningan (Sulistyarini *et al.*, 2020).

Berdasarkan hasil tabel uji fitokimia (Tabel 4.4) bahwa isolat bakteri endofit yang diuji menunjukkan adanya alkaloid dikarenakan adanya endapan berwarna putih, hal ini menandakan alkaloid berperan aktif sebagai antibakteri. Alkaloid sebagai antibakteri bekerja dengan merusak komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel bakteri

tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Alkaloid juga dapat menghambat pembentukan sintesis protein sehingga metabolisme bakteri terganggu (Munfaati, *et al.*, 2015).

3. Saponin

Uji saponin terhadap 2 isolat bakteri endofit, hasilnya keduanya memiliki kandungan saponin. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan yang terdeteksi melalui kemampuannya dengan terbentuknya busa. Adanya komponen ikatan glikosida dalam saponin menyebabkan senyawa ini bersifat polar. Adanya kandungan saponin menggunakan ditandai dengan terbentuknya busa setinggi 1-10 cm dengan selang waktu ± 10 menit (Sulistyarini *et al.*, 2020). Berdasarkan hasil tabel uji fitokimia (Tabel 4.6.) bahwa kandungan saponin dalam isolat bakteri endofit juga berperan aktif sebagai antibakteri. Saponin sebagai antibakteri bekerja dengan kerusakan pada protein dalam sel bakteri sehingga menyebabkan enzim dan protein di dalam sel menjadi pecah (Tivani *et al.*, 2021).

Senyawa saponin dapat menyebabkan gangguan pada permeabilitas sel yang mengakibatkan sitoplasma keluar dan dapat membuat sel mati. Saponin juga dapat merusak porin dengan membentuk ikatan polimer kuat dengan porin (protein transmembran) di membran luar dinding sel bakteri. Saponin dapat menyebabkan kematian sel dikarenakan berikatan dengan membran sitoplasma yang mengakibatkan penurunan stabilitas, serta gangguan pada membran, sehingga komponen intraseluler seperti sitoplasma dapat keluar dan terjadi kematian sel (Viando *et al.*, 2023).

4. Steroid dan Terpenoid

Hasil uji fitokimia steroid dan terpenoid berdasarkan Tabel 4.6 hasil negatif karena tidak terdapat perubahan warna menjadi hijau untuk hasil steroid dan merah untuk hasil terpenoid. Menurut Yati *et al.* (2021) bahwa senyawa metabolit yang ada di supernatan bakteri sedikit, hal ini menyebabkan tidak terdeteksi adanya hasil positif.

Tumbuhan adalah anugerah yang Allah SWT ciptakan dan semestinya dapat dimanfaatkan oleh manusia untuk kebaikan, sebagaimana yang dinyatakan dalam surah Al-Hijr ayat 19-20:

وَالْأَرْضَ مَدَدْنَاهَا وَأَلْقَيْنَا فِيهَا رَوَاسِيَ وَأَنْبَثْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ شَيْءٍ مَّوْزُونٍ ﴿١٩﴾ وَجَعَلْنَا لَكُمْ فِيهَا مَعَايِشَ وَمَنْ لَسْتُمْ لَهُ بِرِزْقَيْنَ ﴿٢٠﴾

Artinya: “Kami telah menghamparkan bumi, memancangkan padanya gunung-gunung, dan menumbuhkan di sana segala sesuatu menurut ukuran(-nya). Kami telah menjadikan di sana sumber-sumber kehidupan untukmu dan (menjadikan pula) makhluk hidup yang bukan kamu pemberi rezekinya.” (QS: Al-Hijr [15]: 19-20).

Ayat tersebut, menurut tafsir Al-Mishbah, menjelaskan bahwa Allah SWT telah menciptakan dan menghamparkan bumi dengan luasnya agar mempermudah kehidupan manusia. Meskipun bumi ini diciptakan bulat, Allah menempatkan gunung-gunung yang kokoh untuk mencegah bumi bergoncang, sehingga menciptakan kondisi stabil bagi penghuninya. Segala sesuatu yang ada di bumi diciptakan oleh Allah dengan ukuran dan kebijaksanaan-Nya, sesuai dengan kebutuhan dan kemaslahatan makhluk. Bumi ini dijadikan sebagai anugerah bagi manusia, menyediakan segala sarana kehidupan baik kebutuhan pokok maupun tambahan. Allah juga menciptakan makhluk-makhluk lain di bumi ini sebagai ujian

bagi manusia, dan manusia harus menyadari bahwa mereka bukanlah pemberi rezeki bagi makhluk-makhluk tersebut.

Allah SWT menciptakan semua yang ada di alam dunia ini untuk kebaikan manusia. Semua yang terdapat di bumi, baik yang hidup ataupun mati, yang kecil ataupun besar, pasti memiliki manfaatnya masing-masing. Allah SWT telah menciptakan beragam jenis tumbuhan di bumi ini, semuanya menurut standar dan takarannya masing-masing, tidak ada tumbuhan yang tidak dapat diukur, tidak mengandung manfaat. Setiap tanaman memiliki hikmah dan manfaat, meski banyak orang yang belum mengetahuinya. Tanaman temulawak merupakan salah satu anugerah Allah SWT yang terbesar dan dapat memberi manfaat bagi makhluk-Nya, salah satunya bagi keberlangsungan hidup mikroba endofit sehingga dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri karena terdapat senyawa bioaktif yang sama dengan tanamannya.

4.2.3 Hasil Uji Aktivitas Konsentrasi Hambat dan Bunuh dari Bakteri Endofit terhadap *Propionibacterium acnes*

Hasil uji zona hambat dari 7 isolat bakteri endofit menunjukkan hanya 2 isolat yang terdapat aktivitas antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes* dengan kategori sedang yaitu ISTL I 1 dan IST II 3, artinya Isolat bakteri endofit tersebut berpotensi sebagai antibakteri, dan dilakukan uji lanjutan dengan beberapa variasi konsentrasi untuk menentukan konsentrasi terendah yang memiliki aktivitas penghambatan dan pembunuhan pada bakteri *Propionibacterium acnes*. Hasil pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) yang menunjukkan penghambatan terdapat pada tabel 4.5.

Tabel 4.5 Hasil Pengamatan KHM dengan Microplate 96-Wells

Isolat	Ulangan	Konsentrasi supernatan (%)					K	
		100	50	25	12,5	6,25	+	-
ISTL I 1	1	+	+	+	+	+	+	-
	2	+	+	-	+	+	+	-
	3	+	+	+	+	+	+	-
IST II 3	1	+	+	+	+	+	+	-
	2	+	+	+	+	+	+	-
	3	+	+	+	+	+	+	-

Keterangan: - : Keruh
 + : Jernih
 : Positif KHM

Penilaian KHM dilakukan dalam microplate 96 well dengan dibuat 3 kali ulangan untuk tiap perlakuan. Kontrol positif menunjukkan tidak adanya kekeruhan pada tiap well, sedangkan kontrol negatif menunjukkan adanya kekeruhan, sehingga kontrol positif dan kontrol negatif dapat digunakan sebagai tolak ukur tingkat kejernihan dan kekeruhan dari variasi konsentrasi isolat bakteri endofit. Berdasarkan pengamatan visual dari microplate 96 well setelah diinkubasi selama 24 jam, hal ini dikarenakan untuk memaksimalkan pertumbuhan bakteri dengan cara menyamakan dengan habitat aslinya yaitu dalam tubuh manusia (Astutiningsih *et al.*, 2014). Hasil KHM pada kolom 4 yang memiliki konsentrasi 100% menunjukkan tingkat kejernihan yang paling jernih. Tingkat kejernihan ini setara dengan kolom 1, yang merupakan kontrol positif yang hanya berisi bakteri dan antibiotik. Kolom ke 5 (konsentrasi 50%) sampai dengan kolom ke 8 (konsentrasi 6,25%) memiliki tingkat kejernihan kedua setelah kolom ke 4. Konsentrasi 25% pada ekstrak isolat bakteri ISTL I 1 ulangan ke 2 memiliki hasil KHM yang keruh menandakan bahwa bakteri *P. acnes* pada sumuran tersebut masih hidup, hal ini sesuai dengan pernyataan Lolongan *et al.* (2016) bahwa adanya kekeruhan yang menandakan bakteri masih dapat tumbuh. Hasil KHM membuktikan bahwa isolat

bakteri endofit dari rimpang temulawak isolat ISTL I 1 dan IST II 3 dapat menghambat pada konsentrasi terkecil yaitu 6,26% terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*, menurut pernyataan Fitriana *et al.* (2020) bahwa hasil KHM didapatkan dari konsentrasi paling rendah yang menunjukkan penghambatan pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan kejernihan medium uji.

Cara kerja antibiotik secara bakteriostatik atau menghambat bakteri uji menurut Marfuah *et al.* (2018) yaitu dengan mempengaruhi sintesis protein. Berdasarkan uji fitokimia pada tabel 4.5 bahwa ekstrak isolat bakteri endofit memiliki kandungan senyawa flavonoid. Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol. Senyawa fenol dapat bekerja dengan mendenaturasi protein dalam sel bakteri menyebabkan semua aktivitas metabolisme sel terhenti, karena semua aktivitas metabolisme dikatalisis oleh enzim yang merupakan protein (Marfuah *et al.*, 2018). Pada konsentrasi rendah, fenol dapat menginaktivasi sistem enzim penting dalam sel bakteri, sedangkan pada konsentrasi yang lebih tinggi, fenol dapat menembus dan merusak dinding sel bakteri serta mengendapkan protein di dalamnya (Purwantiningsih *et al.*, 2014).

Inkubasi KHM selama 24 jam, kemudian dilanjutkan KBM selama 24 jam total inkubasi 48 jam. Bakteri uji *P. acnes* termasuk bakteri Gram positif yang memiliki waktu inkubasi 24-48 jam (Pambudi *et al.*, 2023), hal ini memungkinkan pada jam ke 24 bakteri uji telah ada difase logaritmik atau eksponensial, pada fase tersebut bakteri melakukan pembelahan secara konstan dan meningkat (Amiluddin *et al.*, 2023). Pada saat 24 jam telah terlewati dan adanya efek menghambat, dilanjutkan KBM selama 24 jam, waktu tersebut untuk memastikan bahwa bakteri

berada dalam fase stationer dan antibiotik dapat bekerja secara keseluruhan, sehingga diharapkan bakteri uji dapat terbunuh total.

Metode pengujian dengan melihat secara visual kejernihan cukup umum digunakan untuk menentukan KHM, tetapi metode ini memiliki kelemahan karena pengamatan kekeruhan yang dilakukan bersifat subjektif dan dapat bervariasi antar pengamat, yang dapat menyebabkan kesalahan. Selain itu, metode ini tidak dapat membedakan antara sel bakteri yang hidup dengan sel bakteri yang mati, dan adanya perubahan warna larutan menjadi pekat juga dapat mengganggu akurasi hasil pengamatan. (Lolongan *et al.*, 2016). Adanya kendala tersebut, dilakukan uji lanjut dengan menanam larutan hasil uji KHM pada media agar untuk memastikan adanya pertumbuhan bakteri *P. acnes* sekaligus menentukan nilai konsentrasi bunuh minimum (KBM) isolat bakteri endofit rimpang temulawak terhadap bakteri uji.

Penentuan nilai KBM dilakukan dengan menguji aktivitas antibakteri menggunakan hasil uji KHM ke media agar MHA. Konsentrasi ekstrak bakteri endofit yang digunakan adalah 100%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25%. Metode yang digunakan dalam uji KBM yaitu metode *spread plate*. Sampel hasil uji KHM diambil sebanyak 5 µl, dimasukkan media agar, kemudian diratakan menggunakan *cotton swab* dan diinkubasi selama 24 jam. Hasil dari uji KBM berdasarkan perhitungan TPC (*Total Plate Count*) dapat dilihat pada tabel 4.6 sebagai berikut:

Tabel 4.6 Hasil Pengamatan KBM pada Bakteri *P. acnes*

Jenis Bakteri Endofit	Konsentrasi (%)					Kontrol +
	100	50	25	12,5	6,25	
ISTL I 1	186	≥300	≥300	≥300	≥300	0
IST II 3	157,3	≥300	≥300	≥300	≥300	0

Kadar Bunuh Minimum (KBM) adalah konsentrasi terendah yang dapat membunuh seluruh pertumbuhan bakteri, ditentukan berdasarkan konsentrasi yang

menunjukkan zona jernih tanpa pertumbuhan bakteri pada media agar dengan pengamatan secara visual (Efendi & Triana, 2012). Hasil KBM ekstrak bakteri endofit dari rimpang temulawak (ISTL I 1 dan IST I 3) berdasarkan uji pada media agar bahwa secara keseluruhan konsentrasinya tidak dapat membunuh bakteri atau memberikan efek bakterisidal terhadap *Propionibacterium acnes*. Hal ini ditandai dengan masih tumbuhnya koloni bakteri di seluruh cawan petri.

Kontrol positif sebagai larutan yang digunakan untuk membandingkan efektivitas obat antibakteri baku dengan larutan ekstrak uji bakteri, kontrol positif menunjukkan nilai TPC yaitu 0 atau tidak ada pertumbuhan koloni pada media agar. Hasil ini sesuai dengan pengamatan secara visual yang menunjukkan kejernihan pada uji KHM menggunakan microplate 96 well. Hasil uji pada kontrol positif tersebut dapat dijadikan sebagai pembanding dalam uji KBM dalam penelitian ini.

Hasil KBM yang tidak adanya bakteri yang terbunuh pada semua variasi konsentrasi salah satunya karena kuasa Allah SWT, sebagaimana Allah berfirman dalam Al-Qur'an surah Al-A'la ayat 2-3:

الَّذِي خَلَقَ فَسَوَّىٰ ۖ وَالَّذِي قَدَّرَ فَهَدَىٰ ۖ

Artinya: “yang menciptakan, lalu menyempurnakan (ciptaan-Nya). Yang menentukan kadar (masing-masing) dan memberi petunjuk,” (QS: Al-A'la [87]: 2-3).

Menurut Tafsir Al-Mishbah, penjelasan mengenai ayat tersebut adalah bahwa Allah Yang Maha Tinggi telah menciptakan semua makhluk dan menyempurnakan ciptaan-Nya. Selain itu, Allah juga menentukan kadar masing-masing makhluk dan memberi mereka petunjuk. Dengan demikian, setiap makhluk dapat melaksanakan fungsi dan peran yang dituntut darinya sesuai dengan tujuan penciptaannya (Shihab, 2002).

Ketentuan tersebut memberikan suatu petunjuk penyelesaian bahwa seluruh ciptaan Allah sudah disempurnakan tidak hanya manusia tetapi juga makhluk hidup lainnya seperti mikroorganisme yang tidak resisten terhadap kandungan senyawa pada bakteri endofit temulawak. Hal ini menjadi suatu pengingat bahwa Allah SWT menciptakan segala sesuatu pada ukurannya masing-masing, sehingga tidak seharusnya hanya berfikir secara berlebihan, lebih baik mencari penyelesaiannya.

Rasulullah SAW bersabda dalam hadis riwayat Al-Bukhari sebagai berikut:

عَنْ أَبِي هُرَيْرَةَ رَضِيَ اللَّهُ عَنْهُ عَنِ النَّبِيِّ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ قَالَ:
إِنَّ اللَّهَ لَمْ يُنْزِلْ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

Artinya: “*Dari Abu Hurairah RA, dari Nabi SAW: Sesungguhnya Allah tidak menurunkan suatu penyakit kecuali menurunkan (pula) obatnya.*” (HR. Al-Bukhari).

Hadis tersebut menjelaskan bahwa setiap penyakit pasti ada obatnya. Namun, untuk menemukan obat yang tepat bagi setiap penyakit, diperlukan percobaan, atau penelitian agar dapat mengetahui efeknya serta keamanannya, selain itu manfaatnya dapat dirasakan. Nabi mengingatkan umatnya agar tidak putus asa ketika menghadapi penyakit, tetapi harus terus berusaha semampunya untuk mencari pengobatan. Agama Islam sangat menghargai akal manusia dan mendorong umatnya untuk selalu melakukan penelitian dalam berbagai bidang yang memberi manfaat dan kebaikan bagi umat manusia (Razali, 2021). Penjelasan tersebut menjadi suatu pengingat bahwa walaupun ekstrak bakteri endofit yang didapat belum dapat membunuh bakteri patogen, tetapi sebagai manusia harus tetap berusaha mencari cara untuk penyelesaiannya.

Hasil penelitian pada tabel 4.6 menunjukkan tidak adanya Konsentrasi yang dapat membunuh bakteri *P. acnes* bahkan pada konsentrasi yang paling tinggi

100%, hal ini dapat dikarenakan ketika pembuatan ekstrak bakterinya masih berada pada fase eksponensial belum mencapai stationer, sehingga kadar kandungan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan bakteri endofit belum maksimal dan belum mampu membunuh bakteri uji. Selain itu, dapat dikarenakan isolat endofit tersebut memang menghasilkan senyawa aktif lain yang belum teridentifikasi atau fungsinya dapat digunakan selain untuk antibakteri (Kusumawati *et al*, 2014).

Adanya pertumbuhan koloni yang terlalu banyak dapat terjadi karena proses penyebaran sampel yang tidak rata yang mengakibatkan pertumbuhan koloni menjadi banyak sehingga ditandai dengan angka ≥ 300 . Hal ini berkaitan dengan penggunaan metode yaitu dilusi padat. Metode yang dilakukan tanpa dilakukan pengenceran dan sampel dituang secara langsung pada media. Menurut Utami *et al*. (2018) adanya pengenceran dilakukan untuk mengurangi kerapatan pertumbuhan koloni mikroba dari sampel yang diuji, sehingga dapat menghindari pertumbuhan bakteri secara berlebihan.

4.3 Hasil Identifikasi Spesies Bakteri Endofit Rimpang Temulawak yang Mampu Menghambat *Propionibacterium acnes*

Isolat yang berpotensi sebagai antibakteri diidentifikasi lebih lanjut terkait spesies dengan MALDI-TOF MS. Identifikasi menggunakan MALDI-TOF MS dilakukan pada 2 isolat bakteri yang dapat menghambat bakteri *P. acnes* yaitu isolat ISTL I 1 dan IST II 3. Hasil dari identifikasi MALDI-TOF MS terhadap 2 isolat terdapat pada tabel 4.7.

Tabel 4.7 Hasil Identifikasi Isolat Bakteri Endofit dengan MALDI-TOF MS

No.	Isolat	Spesies	Confident
1.	ISTL I 1	<i>Bacillus cereus</i> group	 99,9%
2.	IST II 3	<i>Enterobacter cloacae</i>	 50,0%

4.3.1 *Bacillus cereus*

Hasil isolasi bakteri endofit dari rimpang temulawak dengan kode isolat ISTL I 1 berdasarkan hasil identifikasi secara makroskopis memiliki bentuk tidak berpola (irregular), tepian yang rata, berwarna putih dan permukaannya rata. Pengamatan secara mikroskopis isolat ISTL I 1 termasuk bakteri Gram positif dan memiliki bentuk batang (basil). Hasil identifikasi menggunakan alat MALDI-TOF MS bahwa isolat ISTL I 1 merupakan spesies bakteri *Bacillus cereus* dengan nilai *confidence* sebesar 99.9%, yang menandakan bahwa hasil identifikasi tersebut memiliki keakuratan yang tinggi.

Bacillus cereus memiliki bentuk sel yang basil (batang), bakteri Gram positif, ramping dengan ujung membulat tunggal, berpasangan, dan rantai pendek, termasuk bakteri aerobik fakultatif, hidupnya tersebar luas di lingkungan (Bottone, 2010). Bakteri *Bacillus cereus* memiliki endospore, dapat bertahan hidup di suhu panas, termasuk bakteri mesofilik yang dapat hidup di rentang suhu 10°C – 48°C, dan suhu optimalnya adalah 28°C–35°C, Bakteri ini umumnya ditemukan di tanah serta dalam industri seperti produk susu, sayuran, dan herbal (Sabtu & Suryatni, 2019). Genus *Bacillus* mampu merangsang pertumbuhan tanaman dengan memproduksi hormon AIA (Asam indol-3-asetat), sehingga mendukung pertumbuhan tanaman. Selain itu, *Bacillus* juga dapat digunakan sebagai agen biokontrol atau pengendali penyakit tanaman (Aji & Lestari, 2020). Klasifikasi bakteri *Bacillus cereus* menurut Todar (2008) sebagai berikut:

Kingdom : Bakteria

Divisi : Firmicutes

Kelas : Bacilli

Ordo : Bacillales

Family : Bacillaceae

Genus : Bacillus

Spesies : *Bacillus cereus*

4.3.2 *Enterobacter cloacae*

Hasil isolasi bakteri endofit dari rimpang temulawak dengan kode isolat IST II 3 berdasarkan hasil identifikasi secara makroskopis memiliki bentuk bulat, tepian yang rata, berwarna putih dan permukaannya rata (entire). Pengamatan secara mikroskopis isolat IST II 3 termasuk bakteri Gram negatif dan memiliki bentuk batang (basil). Hasil identifikasi menggunakan alat MALDI-TOF MS bahwa isolat IST II 3 memiliki kemiripan sebesar 50,0% pada spesies *Enterobacter cloacae* dan sisa 50,0% jenis spesies *Enterobacter asburiae*. yang menandakan bahwa hasil tersebut perlu dikaji ulang atau diidentifikasi lebih lanjut. Identifikasi lanjutan dapat dilakukan dengan metode lainnya, seperti identifikasi molekuler atau biokimia.

Hasil yang kurang akurat dapat dikarenakan spesies *E. cloacae* dan *E. asburiae* termasuk dalam *Enterobacter cloacae complex* (ECC). Kelompok *Enterobacter cloacae complex* (ECC) terdiri dari 6 spesies yang terdiri dari *E. asburiae*, *E. cloacae*, *E. kobei*, *E. hormaechei*, *E. nimipressuralis*, dan *E. ludwigii*. Kelompok bakteri ini memiliki keterkaitan DNA yang sama dengan spesies *E. cloacae* yang berkisar antara 61 hingga 67% (Mezzatesta *et al.*, 2012). Selain itu, isolat yang ada dalam cawan petri diduga masih bercampur jenis, sehingga belum

menjadi isolat murni. Penyebab lainnya adalah karena dalam database, terdapat banyak variasi spektrum acuan untuk satu spesies, sehingga menyebabkan variasi yang beragam dalam ekspresi protein acuan bahkan hanya untuk satu spesies tertentu (Kemalaputri *et al.*, 2017).

Enterobacter cloacae memiliki bentuk sel batang (basil), termasuk bakteri Gram negatif, anaerob fakultatif, tidak memiliki endospora, dan termasuk dalam famili Enterobacteriaceae. Spesies *E. cloacae* dapat ditemukan di alam (Davin-Regli & Jean-Marie, 2015). Menurut Rafif *et al.* (2023) bakteri *E. cloacae* memiliki ciri yaitu koloni besar (large), bentuknya bulat (circular), permukaannya cembung (convex), teksturnya halus (smooth), tepiannya rata (flat), dan berwarna keabuan hingga putih pada media NA. Spesies *Enterobacter cloacae* termasuk bakteri yang keberadaannya beragam yaitu tanaman, tanah dan manusia (Liu *et al.*, 2013). Bakteri *E. cloacae* hidup disuhu lingkungan mesofilik yaitu 37°C, Selain ditemukan di alam, *Enterobacter cloacae* juga dapat ditemukan pada jaringan buah dan sayur serta di kulit manusia. Bakteri ini bukan termasuk patogen utama pada manusia, tetapi memiliki berperan penting dalam infeksi nosocomial (Baharutan *et al.*, 2015). Menurut penelitian Panigrahi *et al.* (2020) isolat bakteri endofit *Enterobacter cloacae* pada tanaman dapat membantu memproduksi hormon IAA (Asam Indole-3-asetat) yang mengatur berbagai aspek pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Klasifikasi *Enterobacter cloacae* menurut Garrity *et al.* (2004) sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria

Phylum : Proteobacteria

Class : Gamma Proteobacteria

Order : Enterobacteriales

Family : Enterobacteriaceae
Genus : Enterobacter
Species : *Enterobacter cloacae*

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Hasil pengamatan makroskopis terhadap 7 isolat bakteri endofit memiliki bentuk irregular dan circular. Tepiannya memiliki bentuk undulate dan entire. Tujuh isolat memiliki warna koloni putih, dan permukaannya yang sama rata. Hasil pengamatan mikroskopis terdapat bakteri Gram positif (4 isolat) dan bakteri Gram negatif (3 isolat). Isolat bakteri memiliki bentuk sel basil dan coccus.
2. Hasil uji aktivitas antibakteri didapatkan 1 isolat bakteri yang dapat menghambat bakteri *Propionibacterium acnes* dengan kategori lemah yaitu IST I 1 dan terdapat 2 isolat bakteri lain yang dapat menghambat dengan kategori sedang yaitu ISTL I 1 dan IST II 3. Hasil uji konsentrasi hambat minimum (KHM) dengan isolat bakteri endofit yaitu ISTL I 1 dan IST II 3 dapat menghambat bakteri *P. acnes* pada konsentrasi 6,25%, sedangkan hasil uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) bahwa isolat bakteri endofit temulawak tidak dapat membunuh bakteri *P. acnes*.
3. Hasil identifikasi spesies menggunakan MALDI-TOF MS bahwa isolat ISTL I 1 merupakan spesies *Bacillus cereus* dengan nilai confident 99,9%, sedangkan isolat IST II 3 memiliki kemiripan sebesar 50,0% dengan spesies *Enterobacter cloacae*.

5.2 Saran

Saran yang dapat disampaikan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Kurva fase pertumbuhan bakteri endofit perlu dilakukan penambahan waktu (jam) sampai mencapai fase stationer, sehingga isolat dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder secara maksimal
2. Diperlukan identifikasi lebih lanjut pada spesies dengan hasil yang perlu dikaji ulang, menggunakan metode lain, seperti molekuler atau biokimia.

DAFTAR PUSTAKA

- Abna Inherni Marti & Ayu Puspitalena. (2023). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Tanah di Kelurahan Cengkareng Barat Jakarta Barat. *Archives Pharmacia*. 5(1): 23-34.
- Afifah, N., Putri, D. H., & Irdawati, I. (2018). Isolation and Identification of Endophytic Bacteria From The Andalas Plant Stem (*Morus macroura* Miq.). *Bioscience*. 2(1): 72-75.
- Aji, O. R., & Lestari, I. D. (2020). Bakteri Endofit Tanaman Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Penghasil Asam Indol Asetat (AIA). *Al-Kauniyah: Jurnal Biologi*. 13(2): 179-191.
- Alhayyu, W. N., Astuti, W., & Marliana, E. (2022). Potensi Bakteri Endofit Daun Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) sebagai Antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes*. *Jurnal Kimia Mulawarman*. 20(1): 1-8.
- Alizadeh, M., Yousefi, L., Pakdel, F., Ghotaslou, R., Rezaee, M. A., Khodadadi, E., & Kafil, H. S. (2021). MALDI-TOF Mass Spectroscopy Applications in Clinical Microbiology. *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*. 2021(1).
- Amiluddin, M. I., Islawati, I., & Amirullah, A. (2023). Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans*. *Nuhela Journal of Injury*. 2(1): 7-16.
- Amin, S.S., Tita Z. G., Meilisa, R.S.E. (2023). Identifikasi Bakteri dari Telapak Tangan dengan Pewarnaan Gram. *CHEMVIRO: Jurnal Kimia dan Ilmu Lingkungan*. 1 (1): 30-35
- Andayaningsih T. & Siti Muchayat P. (2016). Maldi-Tof dan Seldi-Tof Mass Spectrometry dengan Throughput Tinggi untuk Analisis Proteomik Profil Protein dari Petanda Biologis. *Indonesian Journal Of Clinical Pathology and Medical Laboratory*. 22(2): 194-199.
- Anggraeni, I.S. (2020). Aktivitas Antibakteri Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb), Temu Putih (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe.), dan Temu Hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) terhadap Bakteri Penyebab *acne vulgaris*. *Skripsi*. Jurusan Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana. Bandung.
- Apriliani, D., & Enny, Z. (2021). Viability and Production Calcifying Bacterial Endospore on Sand-Cement Carrier. *Jurnal Ilmiah Biologi Eksperimen Dan Keanekaragaman Hayati (J-BEKH)*. 8(1): 8-13.
- Aziz, S. A., Gusmaini, G., Munif, A., Sopandie, D., & Bermawie, N. (2013). Potensi Bakteri Endofit dalam Upaya Meningkatkan Pertumbuhan, Produksi, dan Kandungan Andrografolid pada Tanaman Sambiloto. *Industrial Crops Research Journal*. 19(4): 167-177.
- Azmin, N., & Rahmawati, A. (2019). Skrining dan Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat Tradisional Masyarakat Kabupaten Bima. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia*. 6(2): 259-268.
- Baharutan, A., Rares, F. E., & Soeliongan, S. (2015). Pola Bakteri Penyebab Infeksi Nosokomial pada Ruang Perawatan Intensif Anak di BLU RSUP Prof. DR. RD Kandou Manado. *eBiomedik*. 3(1): 412-419.

- Baraga, P. V., Mahyarudin, M., & Rialita, A. (2022). Aktivitas Antibakteri Metabolit Sekunder Isolat Bakteri Endofit Kunyit (*Curcuma longa* L.) terhadap *Propionibacterium acnes*. *Bioma: Jurnal Ilmiah Biologi*. 11(1):103-120
- Bottone, E. J. (2010). *Bacillus cereus*, a Volatile Human Pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*. 23(2): 382-398.
- Christy, Y. (2014). Fermentation (Industrial): Basic Considerations. *Encyclopedia of food microbiology*: 751-761.
- Dalimunthe, A. I. R., Susanna, S., & Hakim, L. (2023). Eksplorasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit Asal Tanaman Padi Sawah di Kabupaten Aceh Besar. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pertanian*. 8(3):550-564.
- Davin-Regli, A., & Jean-Marie, P. (2015). *Enterobacter aerogenes* and *Enterobacter cloacae*; Confronting Versatile Bacterial Pathogens Antibiotic Treatment. *Frontiers in Microbiology*. 6(392).
- Dermawaty, D.E. (2015). Potential Extract Curcuma (*Curcuma xanthorrhizal*, Roxb) as Antibacterials. *Jurnal Majority*, 4(1).
- Deswita, W., Kartika, M., & Efrida, P. S. T. (2021). Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Umbi Lobak Putih (*Raphanus sativus* L) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. *Klorofil*. 5(2): 111-116.
- Efendi, Y. N., & Triana, H. (2013). Antimicrobial Potency of Ant-Plant Extract (*Myrmecodia tuberosa* jack.) Against *Candida albicans*, *Escherichia coli*, and *Staphylococcus aureus*. *Majalah Obat Tradisional*. 18(1): 53-58.
- Effendi Irwan. (2020). *Identifikasi bakteri: Metode identifikasi dan klasifikasi bakteri*. Pekanbaru: Oceanum Press.
- Espinoza-Turcios, E., Chinchilla-Castaneda, K., Sosa-Mendoza, C. A., Zambrano, L. I., Castro-Ramos, H. N., Armada-Pacheco, J. M., & Mejia, C. R. (2023). Factors Affecting The Quality of Life of Acne-Suffering Adolescents in Honduras, Central America, and its Repercussions. *medRxiv*, 2023(03).
- Fachriyah, E., Wibawa, P. J., & Awaliyah, A. (2020). Antibacterial Activity of Basil Oil (*Ocimum basilicum* L) and Basil Oil Nanoemulsion. *In Journal of Physics: Conference Series*. 1524 (1): 1-11.
- Fahmi, M. (2021). Penggunaan Manusia Sebagai Relawan dalam Ujicoba Obat Baru: Kajian Alquran, Hadis dan Kaedah Fiqih. *El-Usrah: Jurnal Hukum Keluarga*. 4(1): 64-75.
- Fajarullah, A., Irawan, H., & Pratomo, A. (2014). Ekstraksi Senyawa Metabolit Sekunder Lamun *Thalassodendron Ciliatum* pada Pelarut Berbeda. *Repository Umrah*. 1(1): 1-15.
- Fallo, G., Sine, Y., & Pardosi, L. (2019). Exploration of Endophytic Bacteria from Red Ginger (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) from Timor Island. *Journal of Dry Land Science*. 2(2): 36-38.
- Fatisa, Y. (2013). Daya Antibakteri Estrak Kulit dan Biji Buah Pulasan (*Nephelium mutabile*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Secara *In Vitro*. *Jurnal peternakan*. 10(1):31-38.
- Fauzi, A. (2019). *Aneka tanaman obat dan khasiatnya*. Jakarta: Media Pressindo.
- Febriyossa, A., & Rahayuningsih, N. (2021). Uji Daya Hambat Perasan Rimpang Jahe Putih, Kunyit dan Temulawak Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Health Sains*. 2(1): 1-6.

- Firdous, J., Mona, R., & Muhamad, N. (2019). Endophytic Bacteria and Their Potential Application in Agriculture: a Review. *Indian Journal of Agricultural Research*. 53(1): 1-7.
- Fissy, S. Octy, N., Rafika, S., dan Liza, P. (2014). Efektivitas Gel Anti Jerawat Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* Rosc. Var. Rubrum) terhadap *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 12 (2): 194-201.
- Fitriana, Y. A. N., Fatimah, V. A. N., & Fitri, A. S. (2020). Aktivitas Anti Bakteri Daun Sirih: Uji Ekstrak KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bakterisidal Minimum). *Sainteks*. 16(2).
- Garrity, G. M., J. A. Bell. and T. G. Lilburn. (2004). *Taxonomic Outline of The Prokaryotes Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Second Edition. Springer. Hal. 116.
- Gerung, W. H. P., Fatimawali, F., & Antasionasti, I. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Botol (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Propionibacterium acnes* Penyebab Jerawat. *Pharmacon*. 10(4): 1087-1093.
- Hakim, L. (2022). *Bakteri Patogen Tumbuhan*. Aceh: Syiah Kuala University Press.
- Handayani, M. S., Setiawati, S., Nia, K., & Eman, S. (2023). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Terong Ungu (*Solanum melongena* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Medical and Health Journal*. 2 (2): 102-109.
- Handayani, V. (2015). Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia Calabura* L.) terhadap Bakteri Penyebab Jerawat. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 2(1): 94-96
- Hanif, A., & Rini S. (2017). Analisis Senyawa Antifungal Bakteri Endofit Asal Tanaman Jagung (*Zea mays* L.). *Agrintech: Jurnal Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian*. 1(1): 23-29.
- Hasan, S. H., Kepel, B. J., & Rompas, S. S. (2015). Hubungan Pola Makan dengan Kejadian *Acne vulgaris* pada Mahasiswa Semester V (Lima) di Program Studi Ilmu Keperawatan Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado. *Jurnal Keperawatan*. 3(1): 1-8.
- Hidayati, U., Chaniago, I. A., Munif, A., Siswanto, S., & Santosa, D. A. (2014). Potensi Kultur Campuran Bakteri Endofit sebagai Pemacu Pertumbuhan Bibit Tanaman Karet. *Jurnal Penelitian Karet*. 129-138.
- Hidayati, W., Yuniarti, F., Shofaya, L., Utomo, S. P., & Munaziah, L. (2017). Screening and Identification Endophytic Bacteria From Indonesian Bay Leaves (*Eugenia polyantha* Wight) with Antibacteria Activity. *Proceeding Kolok UHAMKA*. 1(2): 167-76.
- Kasiran, K. (2008). Peningkatan Penyediaan Bahan Baku Obat Alami Bersumber dari Temulawak Penelitian Produksi Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) melalui Penggunaan Ukuran Bibit yang Berbeda. *Buletin Penelitian Sistem Kesehatan*. 11(3): 21159.
- Kemalaputri, D. W., Jannah, S. N., & Budiharjo, A. (2017). Deteksi MRSA (Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*) pada Pasien Rumah Sakit dengan Metode Maldi-Tof MS dan Multiplex PCR. *Jurnal Akademika Biologi*. 6(4): 51-61.

- Idiawati, N., Sofiana, M. S. J., & Rousdy, D. W. (2017). Potensi Antibakteri dari Bakteri Berasosiasi *Thalassia hemprichii* dari Perairan Lemukutan. *Buletin Oseanografi Marina*. 6(2): 130-133.
- Imawati, R. (2015). Isolasi dan identifikasi Bakteri Endofit dari Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri terhadap Bakteri *Pseudomonas earuginosa* dan *Staphylococcus epidemidis*. *Tesis Sarjana*. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Irdawati, Linda, A., Fitri, A. (2017). Isolasi dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Endofit dari Daun Salam (*Syzygium polyanthum wight*). *Bioscience*. 1(2): 62.
- Jianting Yang, Yang, H., Xu, A., & He, L. (2020). A Review of Advancement on Influencing Factors of Acne: an Emphasis on Environment Characteristics. *Frontiers in public health*. 8(450).
- Jawetz, E., Brooks, G. F., Melnick, J. L., & Adelberg, E. A. (2013). *Medical Microbiology. Climate Change - The Physical Science Basis*. New York: McGraw-Hill Inc
- Karimah, A., Purwanti, S., & Rogomulyo, R. (2013). Kajian Perendaman Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dalam Urin Sapi dan Air Kelapa untuk Mempercepat Pertunasan. *Vegetalika*. 2(2): 1-6.
- Khoiriyah, H., & Puji, A. (2014). Penentuan Waktu Inkubasi Optimum terhadap Aktivitas Bakteriosin *Lactobacillus* Sp. Red4. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. 3(4): 52-56.
- Kusbianto, D., Ardiansyah, R., & Hamadi, D. A. (2017). Implementasi Sistem Pakar Forward Chaining untuk Identifikasi dan Tindakan Perawatan Jerawat Wajah. *Jurnal Informatika Polinema*. 4(1): 71-80.
- Kustina, E., & Zulharmita, M. S. (2020). Traditional Uses, Phytochemistry and Pharmacology of *Curcuma xanthorrhiza* Roxb.: a Review. *Intl J Health Sci Res*. 5(3): 2455-7587.
- Kusumawati, D. E., Pasaribu, F. H., & Bintang, M. (2014). Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Endofit dari Tanaman Miana (*Coleus scutellarioides* [L.] Benth.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Current Biochemistry*. 1(1): 45-50.
- Latifah, S. & Evi, K. (2015). Stres dengan Akne Vulgaris. *Jurnal Majority*. 4(9): 129-134.
- Leonita, S., Bintang, M., & Pasaribu, F. H. (2015). Isolation and Identification of Endophytic Bacteria from *Ficus variegata* blume as Antibacterial Compounds Producer. *Current Biochemistry*. 2(3): 116-128.
- Lindawati, N. Y., & Sabilla, H. M.. (2020). Penetapan Kadar Total Flavonoid Ekstrak Etanol Kacang Merah (*Phaseolus Vulgaris* L.) secara Spektrofotometri Visibel. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 6(1): 83-91.
- Liu, W. Y., Wong, C. F., Chung, K. M. K., Jiang, J. W., & Leung, F. C. C. (2013). Comparative Genome Analysis of *Enterobacter cloacae*. *PLoS One*. 8(9).
- Lo, C. I., Sambe-Ba, B., Flaudrops, C., Faye, N., Mediannikov, O., Sokhna, C., ... & Fenollar, F. (2017). Value of Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight (MALDI-TOF) Mass Spectrometry in Clinical Microbiology and Infectious Diseases in Africa and Tropical Areas. *African Journal of Microbiology Research*. 11(35): 1360-1370.

- Lolongan, R. A., Waworuntu, O., & Mintjelungan, C. N. (2016). Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina* L.) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *e-GiGi*, 4(2).
- Madelina, W. & Sulistiyaningsih. (2018). Resistensi Antibiotik pada Terapi Pengobatan Jerawat. *Farmaka*. 16(2): 105-117.
- Maharani, T. E. H., Suryani, S., & Hapsari, W. D. (2021). Hubungan Pemakaian *Compact Powder* terhadap Tingkat Keparahan *Acne vulgaris* pada Remaja Wanita di MA YPI klambu. *The Shine Cahaya Dunia S-1 Keperawatan*. 6(02): 13-22
- Mahjani, M., & Putri, D. H. (2020). Growth Curve of Endophyte Bacteria Andalas Plant (*Morus macroura* Miq.) BJT A-6 ISOLATE. *Serambi Biologi*. 5(1).
- Malanovic, N., & Lohner, K. (2016). Gram-Positive Bacterial Cell Envelopes: The Impact on The Activity of Antimicrobial Peptides. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*. 1858(5): 936-946.
- Marfuah, I., Dewi, E. N., & Rianingsih, L. (2018). Kajian Potensi Ekstrak Anggur Laut (*Caulerpa racemosa*) sebagai Antibakteri terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*. 7(1): 7-14.
- Meliala, A.A & Riri, A.S.L. (2020). Hubungan *Acne vulgaris* dengan Gejala Ansietas pada Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara. *Jurnal Pandu Husada*. 1(2): 101-106.
- Mezzatesta, M. L., Gona, F., & Stefani, S. (2012). *Enterobacter cloacae* complex: Clinical Impact and Emerging Antibiotic Resistance. *Future microbiology*. 7(7): 887-902.
- Milliana, A., & Wahyu, S. (2015). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit Rimpang Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza* Roxb.) sebagai Penghasil Senyawa Antifungi terhadap *Candida Albicans*. *El-Hayah*. 5(2): 49-63.
- Mukti, L. S., & Utamy, H. (2020). Pharmacological Activities of *Curcuma xanthorrhiza*. *Jurnal Info Kesehatan*. 10(1): 270-278.
- Mulqie, L., Suwendar, M. F. R., Mardliyani, D., Yumniati, I., Widiyari, A. N. B., & Nurrosyidah, Z. (2022). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jambu Air [*Eugenia Aqueum* (Burm. F) Alston] dengan Mikrodilusi Agar. *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*. 5(1): 1-8.
- Munfaati, P. N., Ratnasari, E., & Trimulyono, G. (2015). Aktivitas Senyawa Antibakteri Ekstrak Herba Meniran (*Phyllanthus niruri*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Shigella dysenteriae* secara In Vitro. *Lentera bio*. 4(1): 64-71.
- Mutaqin, A. Z., Nurzaman, M., Setiawati, T., Budiono, R., & Noviani, E. (2017). Pemanfaatan Tumbuhan Famili Zingiberaceae oleh Masyarakat Sekitar Kawasan Wisata Pantai Rancabuaya Kecamatan Caringin Kabupaten Garut. *Sains dan Matematika*. 5(2): 35-41.
- Naibaho, F., Putra, E. D., Neneng, L., & Panjaitan, D. (2023). Isolasi Bakteri Endofit Bawang Dayak (*Eleutherine bulbosa*) dan Uji Antagonisme Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Bioma*. 19(1): 42-51.
- Nasution, R., & Bahi, M. (2022). *Beberapa Tumbuhan Penghasil Buah Dalam Genus Artocarpus di Indonesia*. Aceh: Syiah Kuala University Press.

- Novaryatiin, S. (2016). Identifikasi Bakteri dan Resistensinya terhadap Antibiotik di Poli Gigi RSUD Dr. Doris Sylvanus Palangka Raya. *Jurnal Surya Medika (JSM)*. 1(2): 17-25.
- Nugraha, A. C., Prasetya, A. T., & Mursiti, S. (2017). Isolasi, Identifikasi, Uji Aktivitas Senyawa Flavonoid sebagai Antibakteri dari Daun Mangga. *Indonesian Journal of Chemical Science*. 6(2): 91-96.
- Nursulistyarini, F., & Ainy, E. Q. (2014). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit Penghasil Antibakteri dari Daun Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). In *Proceeding Biology Education Conference: Biology, Science, Enviromental, and Learning*. 11 (1): 114-120.
- Paliling, A., Posangi, J., & Anindita, P. S. (2016). Uji Daya Hambat Ekstrak Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap Bakteri *Porphyromonas gingivalis*. *e-GiGi*. 4(2): 229-234.
- Pambudi, D. R., Fitriyanti, F., Kholilah, S., Jamalludin, W. B., & Chandra, M. A. (2023). Pengaruh Masa Inkubasi Bakteri *Propionibacterium acnes* terhadap Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine americana* Merr.). *Jurnal Pharmascience*. 10(2): 369-377.
- Panigrahi, S., Mohanty, S., & Rath, C. C. (2020). Characterization of Endophytic Bacteria *Enterobacter cloacae* MG00145 Isolated From *Ocimum sanctum* with Indole Acetic Acid (IAA) Production and Plant Growth Promoting Capabilities Against Selected Crops. *South African Journal of Botany*. 134: 17-26.
- Patel, R. (2019). A Moldy Application of MALDI: MALDI-ToF Mass Spectrometry for Fungal Identification. *Journal of Fungi*. 5(1): 4.
- Pikoli, M. R., Rahmah, F. A., Sari, A. F., Astuti, P., & Solihat, N. A. (2020). *Memancing Mikroba dari Sampah: Isolasi Mikroorganisme Pendegradasi Mikroplastik dari Tempat Pembuangan Akhir (TPA) Sampah*. Depok: Penerbit Kinza Media.
- Pratiwi Widya, Nursin Abdul Kadir, & Benny Rusli. Identifikasi Bakteri dan Jamur Menggunakan Matrix Assisted Laser Desorption/ionization (MALDI) TOF MS Spectrometry. *Tutorial Infeksi Tropis*: 1-25.
- Pujiati, P. (2015). *Buku Ajar Mikrobiologi Umum*. Madiun: IKIP PGRI Madiun.
- Pulungan, A. S. S., & Tumangger, D. E. (2018). Isolasi dan karakterisasi bakteri endofit penghasil enzim katalase dari daun buasbuas (*Premna pubescens* blume). *Biolink (Jurnal Biologi Lingkungan Industri Kesehatan)*. 5(1): 71-80.
- Purwantiningsih, T. I., & Suranindyah, Y. Y. (2014). Aktivitas Senyawa Fenol dalam Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*) sebagai Antibakteri Alami untuk Penghambatan Bakteri Penyebab Mastitis. *Buletin Peternakan*. 38(1): 59-64.
- Purwanto, U. M., Pasaribu, F. H., & Bintang, M. (2014). Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dan Potensinya sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri. *Current biochemistry*. 1(1): 51-57.
- Putri, A., Safria, A., Wahyu, W.U., & M. Pemi. (2023). Jahe dalam Al-Qur'an dan sains: Analisis penafsiran M. Quraish Shihab terhadap Q.S Al-Insan ayat 17 dalam tafsir Al-Misbah. *Al-Wasathiyah: Journal of Islamic Studies*. 2(2): 240-250.

- Rafif, M., Alfizar, A., & Hakim, L. (2023). Eksplorasi Bakteri Endofit pada Tanaman Padi dari Kabupaten Aceh Besar. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pertanian*. 8(4): 964-976.
- Rahmah, W. N., Sartika, F., & Maduren, Y. E. S. (2023). Identification of Bacteria on Nutrient Agar Plate at The Universitas Muhammadiyah Palangkaraya's Microbiology Laboratory. *Borneo Journal of Medical Laboratory Technology*. 5(2): 338-343.
- Rahman, C. A., Santosa, D., & Purwanto, P. (2022). Aktivitas Rimpang Temulawak sebagai Antibakteri Berdasarkan Lokasi Tumbuhnya: Narrative Review. *Jurnal Pharmascience*. 9(2): 327-343.
- Rahmat Endang, Jun Lee, & Youngmin Kang. (2021). Javanese Turmeric (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.): Ethnobotany, Phytochemistry, Biotechnology, and Pharmacological Activities. *Evidence-Based Complementary And Alternative Medicine*. 2021(1): 1-15.
- Ramadhanty, M. A., Lunggani, A. T., & Nurhayati, N. (2021). Isolasi Bakteri Endofit Asal Tumbuhan Mangrove *Avicennia marina* dan Kemampuannya sebagai Antimikroba Patogen *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* secara In Vitro. *NICHE Journal of Tropical Biology*. 4(1): 16-22.
- Resti, Z., Habazar, T., & Putra, D. P. (2013). Skrining dan Identifikasi Isolat Bakteri Endofit untuk Mengendalikan Penyakit Hawar Daun Bakteri pada Bawang Merah. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika*. 13(2): 167-178.
- Risna, Y. K., Sri-Harimurti, S. H., Wihandoyo, W., & Widodo, W. (2022). Kurva pertumbuhan isolat bakteri asam laktat dari saluran pencernaan itik lokal asal aceh. *Jurnal peternakan indonesia*, 24(1), 1-7.
- Rohmawati, E. S., & Harahap, I. (2017). Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Antifungi Isolat Cendawan Endofit dari Tumbuhan Senduduk (*Melastoma malabathricum* L.). *Prosiding CELSciTech*. 2: 43-49.
- Rustini, R., Ismed, F., & Nabila, G. S. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bakteri Endofit dan Identifikasi Bakteri yang Diisolasi dari Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle). *JSFK (Jurnal Sains Farmasi & Klinis)*. 9(1): 42-49.
- Rychert, J. (2019). Benefits and Limitations of MALDI-TOF Mass Spectrometry for the Identification of Microorganisms. *Journal of Infectiology and Epidemiology*. 2(4).
- Sabbathini, G. C., & Pujiyanto, S. (2017). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Genus *Sphingomonas* dari Daun Padi (*Oryza sativa*) di Area Persawahan Cibirong. *Jurnal Akademika Biologi*. 6(1): 59-64.
- Sabtu, B., & Suryatni, N. P. F. S. F. (2019). Efek Lama Pengasapan Terhadap pH, Kolesterol, Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus cereus* Produk Se'i Sapi (Penambahan Angkak dan Simpan Dingin). *Jurnal Nukleus Peternakan*. 6(1): 10-19.
- Sadikin, N. A. N., Bintari, S. H., Widiatningrum, T., & Dewi, P. (2021). Isolasi, Karakterisasi, dan Uji Aktivitas Antibakteri dari Bakteri Endofit Daun Kelor (*Moringa oleifera*). *Life Science*. 10(2): 109-119.
- Said Ahmad. (2007). *Khasiat dan manfaat temulawak*. Jakarta: PT. Sinar Wadja Lestari.
- Salim, A. (2022). Perumpamaan “Nyamuk” di dalam Al-Qur'an: (Kajian Asbab Al-Nuzul Surah Al-Baqarah Ayat 26). *Jurnal Asy-Syukriyyah*. 23(2): 203-216.

- Salleh, N. A. M., Ismail, S., & Ab Halim, M. R. (2016). Effects of *Curcuma xanthorrhiza* Extracts and Their Constituents on Phase II Drug-Metabolizing Enzymes Activity. *Pharmacognosy Research*. 8(4): 309–315.
- Sari, R., & Prayudyaningsih, R. (2017). Karakter Isolat Rhizobia dari Tanah Bekas Tambang Nikel dalam Memanfaatkan Oksigen untuk Proses Metabolismenya. *Buletin Eboni*. 14(2): 123-136.
- Seko, M., Sabuna, A. C., & Ngginak, J. Ajeran. (2021). Leaves Ethanol Extract (*Bidens pilosa* l) as an Antibacterial *Staphylococcus aureus*. *Jbio: Jurnal Biosains (The Journal Of Biosciences)*. 7(1): 1-9.
- Shihab, M Quraish. (2002). *Tafsir Al-Mishbah: Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an*. Jakarta: Lentera Hati.
- Singhal, N., Kumar, M., Kanaujia, P. K., & Virdi, J. S. (2015). MALDI-TOF Mass Spectrometry: an Emerging Technology for Microbial Identification and Diagnosis. *Frontiers in microbiology*. 6: 1-16.
- Sinurat, A. A. P., Renta, P. P., Herliany, N. E., Negara, B. F., & Purnama, D. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Rumpun Laut *Gracilaria edulis* terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Enggano*. 4(1): 105-114.
- Situmorang, N. (2018). Efek Ekstrak dan Fraksi Herbal *Peperomia pellucida* (L.) Kunth., Terhadap Beberapa Bakteri Patogen Kulit. *BIOLINK (Jurnal Biologi Lingkungan Industri Kesehatan)*. 4(2): 90-100.
- Sulistiyarini, I., Sari, D. A., & Wicaksono, T. A. (2020). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*). *Cendekia Eksakta*. 5(1): 56–62.
- Syamsudin, R. A. M. R., Farid, P., Firly, S. M., Vicka, G., Apriliani, P. A. R., Novia, D. C., Sri, A., Rahma, Y., & Fezi, K. (2019). Temulawak Plant (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) as Traditional Medicine. *Farmako Bahari*. 10: 51-65.
- Tivani, I., Amananti, W., Putri, A. R., No, J. M., & Indonesia, K. T. J. T. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Handwash Ekstrak Daun Turi (*Sesbania grandiflora* L) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 7(1): 86-91.
- Todar, K. (2008). *Bacillus cereus food poisoning*. Todar's online Textbook of Bacteriology.
- Tunnisa, M., Mulqie, L., & Hajar, S. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Kentang (*Solanum Tuberosum* L.) terhadap *Propionibacterium*. *Prosiding Farmasi*: 510-516.
- Udin, Z. (2013). Sitotoksik Xanthorrhizol dari Minyak Atsiri Rimpang Temulawak *Curcuma xanthorrhizol* terhadap Sel Kanker Payudara YBM-I. *Jurnal Kimia Terapan Indonesia*. 15(1): 23-29.
- Utami, S., Bintari, S. H., & Susanti, R. (2018). Deteksi *Escherichia coli* pada Jamu Gendong di Gunungpati dengan Medium Selektif Diferensial. *Life science*. 7(2): 73-81.
- Valentina, F., Yuliani, L. L., & Lisdiana, L. (2018). Potensi Konsorsium Dua Isolat Bakteri Endofit dari Akar Tanaman Ubi Jalar var. Papua Patippi dalam Menghasilkan Hormon Indole-3-Acetic-Acid (IAA). *Jurnal Lantera Bio*. 7(1): 20-27.

- Viando, E. J, Vinna, K. S., & Natallia, P. (2023). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Mangga Gedong Terhadap *Streptococcus mutans*: Studi Eksperimental. *Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran*. 35(2): 134-140.
- Wahyuningsih, N., & Zulaika, E. (2019). Perbandingan Pertumbuhan Bakteri Selulolitik pada Media Nutrient Broth dan Carboxy Methyl Cellulose. *Jurnal sains dan Seni ITS*. 7(2): 36-38.
- Wahjuni, S., Suirta, I. W., & Wasudewa, K. M. (2022). Kulit Daun Lidah Buaya (*Aloe vera*) Mengandung Flavonoid sebagai Antibakteri terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Padang: Global Eksekutif Teknologi.
- Wardani, H.N. (2020). Potensi Ekstrak Daun Sirsak dalam Mengatasi Kulit Wajah Berjerawat. *Jurnal Penelitian Perawat Profesional*. 2(4): 563-570.
- Wibawa, I. G. A. E., & Winaya, K. K. (2019). Karakteristik Penderita *Acne vulgaris* di Rumah Sakit Umum (RSU) Indera Denpasar Periode 2014-2015. *Jurnal Medika Udayana*. 8(11): 1-4.
- Wulandari, D., & Desi, P. (2019). Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri Amilolitik pada Umbi *Colocasia esculenta* L. Secara Morfologi, Biokimia, dan Molekuler. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia*. 6(2): 247-258.
- Wulansari, A., Aqlinia, M., Wijanarka, W., & Raharja, B. (2019). Isolasi Bakteri Endofit Dari Tanaman Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dan Uji Aktivitas Antibakterinya Terhadap Bakteri Penyebab Penyakit Kulit *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Berkala Bioteknologi*. 2(2): 25-36.
- Yassir, M. & Asnah. (2019). Pemanfaatan Jenis Tumbuhan Obat Tradisional di Desa Batu Hamparan Kabupaten Aceh Tenggara. *BIOTIK: Jurnal Ilmiah Biologi Teknologi dan Kependidikan*. 6(1): 17-34.
- Yati, S. J., Sumpono, S., & Candra, I. N. (2018). Potensi Aktivitas Antioksidan Metabolit Sekunder dari Bakteri Endofit pada Daun *Moringa oleifera* L. *Alotrop*. 2(1): 82-87.
- Yevani, F., Moi, M. Y., & Ermaningsih, D. (2023). Daya Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Kligong (*Crassocephalum crepidiodes*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Syntax Admiration*. 4(1): 1-16.
- Yousif, N. I. M. & Rassool, A. D. (2016). Isolation and Identification of Microorganisms in Acne Patients. *Zanco Journal of Medical Sciences (Zanco J Med Sci)*. 20(2): 1330-1336.
- Yuliar, Suciati, Supriyati D, Rahmansyah M. (2013). Biodiversity of Endophytic Bacteria and their Antagonistic Activity to *Rhizoctonia solani* and *Fusarium oxysporium*. *GJBHS*. 2(4): 111-118.
- Yunita, M., Ohiwal, M., Dirks, C. S., Angkejaya, O. W., Ilsan, N. A., & Sukmawati, S. (2022). Endophytic Bacteria Associated With *Myristica fragrans* Houtt: Improved Media, Bacterial Population, Preliminary Characterization, and Potential as Antibacterials. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*. 23(8): 4047–4054.
- Zahrah, H., Mustika, A., & Debora, K. (2018). Aktivitas Antibakteri dan Perubahan Morfologi dari *Propionibacterium acnes* setelah Pemberian Ekstrak *Curcuma xanthorrhiza*. *Jurnal Biosains Pascasarjana*. 20(3): 160-169.

- Zubaidah, E., Effendi, F. D., & Afgani, C. A. (2022). *Kombucha: Mikrobiologi, teknologi, dan manfaat kesehatan*. Malang: Universitas Brawijaya Press.
- Zulfarina, Z., Rosiana, Y., Ayudia, D., & Darmawati, D. (2022). Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Laban (*Vitex Pubescens* Vahl) sebagai Antibakteri. *JST (Jurnal Sains dan Teknologi)*. 11(1): 85-92.
- Zulkifli, L., Jekti, D. S. D., Lestari, N., & Rasmi, D. A. C. (2016). Isolasi Bakteri Endofit dari *Sea grass* yang Tumbuh di Kawasan Pantai Pulau Lombok dan Potensinya sebagai Sumber Antimikroba terhadap Bakteri Patogen. *Jurnal Biologi Tropis*. 16(2): 80-93.

LAMPIRAN

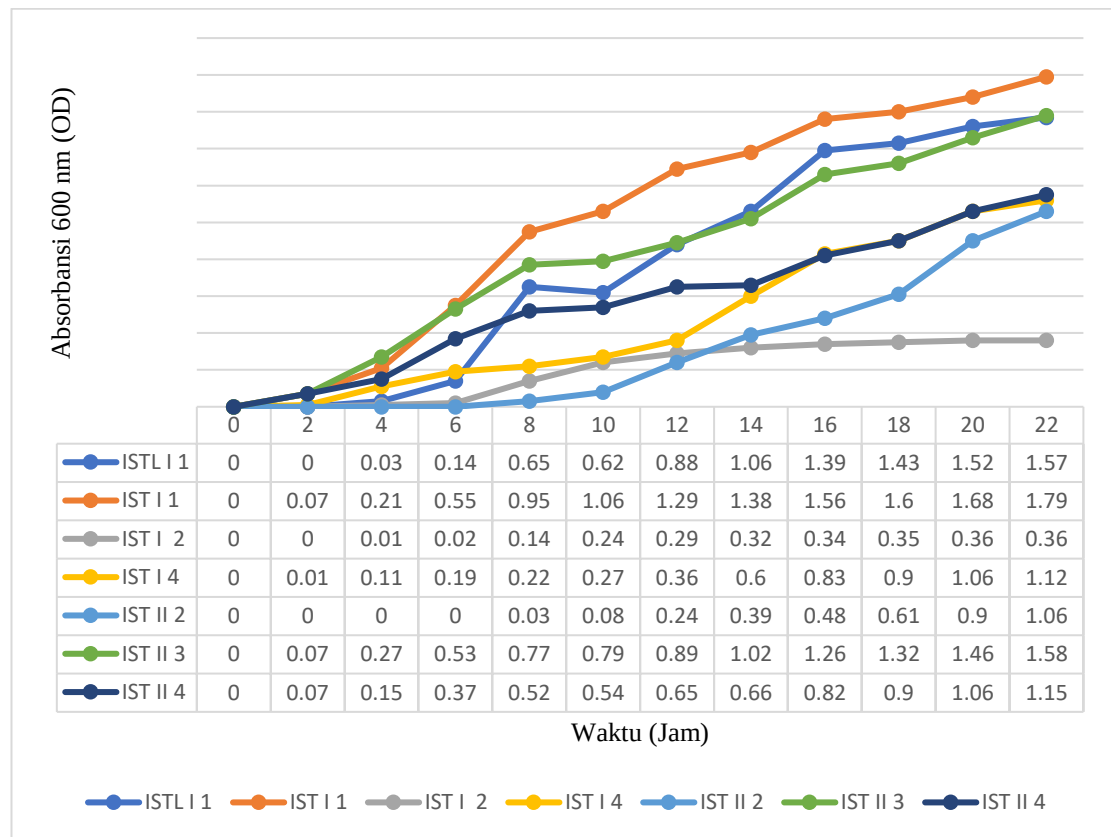
Lampiran 1. Hasil Identifikasi Bakteri Endofit Rimpang Temulawak

Hasil identifikasi isolat bakteri endofit rimpang temulawak adalah sebagai berikut:

Hasil Identifikasi Makroskopis				
Isolat	Morfologi			
	Bentuk Koloni	Tepi Koloni	Elevasi Koloni	Warna Koloni
ISTL I 1	Irregular	Entire	Rata	Putih
IST I 1	Circular	Undulate	Rata	Putih
IST I 2	Circular	Entire	Rata	Putih
IST I 4	Irregular	Undulate	Rata	Putih
IST II 2	Irregular	Undulate	Rata	Putih
IST II 3	Circular	Entire	Rata	Putih
IST II 4	Circular	Undulate	Rata	Putih
Hasil Identifikasi Mikroskopis				
Isolat	Pewarnaan Gram		Bentuk Sel	
ISTL I 1	Positif		Basil	
IST I 1	Positif		Basil	
IST I 2	Positif		Basil	
IST I 4	Negatif		Coccus	
IST II 2	Positif		Basil	
IST II 3	Negatif		Basil	
IST II 4	Negatif		Coccus	

Lampiran 2. Grafik Isolat Bakteri Endofit

Grafik pertumbuhan isolat bakteri endofit sebagai berikut:



Lampiran 3. Rumus Perhitungan

3.1 Perhitungan Diameter Zona Hambat

$$\text{Zona Hambat} = \frac{(D_v - D_s) + (D_h - D_s)}{2}$$

Keterangan: D_v: Diameter vertikal
D_s: Diameter sumur
D_h: Diameter horizontal

Contoh:

$$\text{Zona Hambat} = \frac{(D_v - D_s) + (D_h - D_s)}{2}$$

$$\text{Zona Hambat} = \frac{(10,21 - 5) + (13,38 - 5)}{2}$$

$$\text{Zona Hambat} = \frac{(5,21) + (8,38 - 5)}{2}$$

$$\text{Zona Hambat} = \frac{13,59}{2} = 6,795 \text{ mm}$$

3.2 Perhitungan Rata-Rata KBM

$$\text{Rata - Rata KBM} = \frac{(\text{JK Cawan 1} + \text{JK cawan 2} + \text{JK cawan 3})}{\text{Jumlah total cawan}}$$

Keterangan: JK: Jumlah Koloni

Contoh

$$\text{Rata - Rata KBM} = \frac{(\text{JK Cawan 1} + \text{JK cawan 2} + \text{JK cawan 3})}{\text{Jumlah total cawan}}$$

$$\text{Rata - Rata KBM} = \frac{(151 + 283 + 124)}{3}$$

$$\text{Rata - Rata KBM} = \frac{(151 + 283 + 124)}{3}$$

$$\text{Rata - Rata KBM} = \frac{(558)}{3}$$

$$\text{Rata - Rata KBM} = 186$$

Lampiran 4. Data Hasil Penelitian

4.1 Data Hasil Uji antibakteri

Sampel uji	Ulangan (mm)		Rata-rata (mm)	Kategori daya hambat
	UI 1	UI 2		
ISTL I 1	6,795	3,79	5.2	Sedang
IST I 1	2,38	2,815	2.6	Lemah
IST I 2	0	0	0	Tidak Menghambat
IST I 4	0	0	0	Tidak Menghambat
IST II 2	0	0	0	Tidak Menghambat
IST II 3	5,15	9,74	7,4	Sedang
IST II 4	0	00	0	Tidak Menghambat
Kontrol +		44.4		Sangat Kuat
Kontrol –		0		Tidak Menghambat

4.2 Data Uji KHM

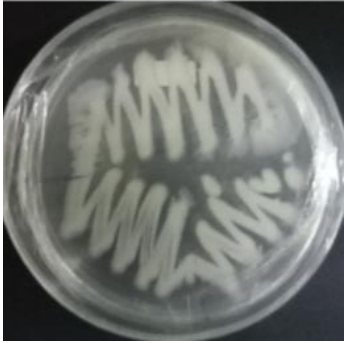
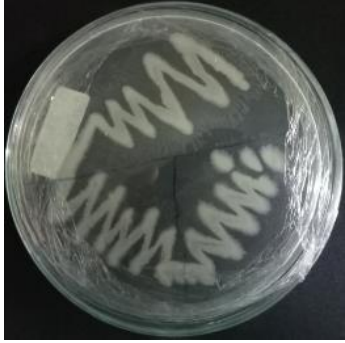
Isolat	Ulangan	Konsentrasi supernatan (%)					K +	K -
		100	50	25	12,5	6,25		
ISTL I 1	1	+	+	+	+	+	+	-
	2	+	+	-	+	+	+	-
	3	+	+	+	+	+	+	-
IST II 3	1	+	+	+	+	+	+	-
	2	+	+	+	+	+	+	-
	3	+	+	+	+	+	+	-

4.3 Data Uji KBM

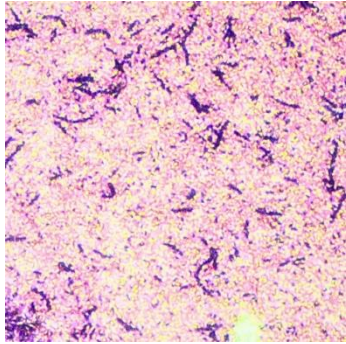
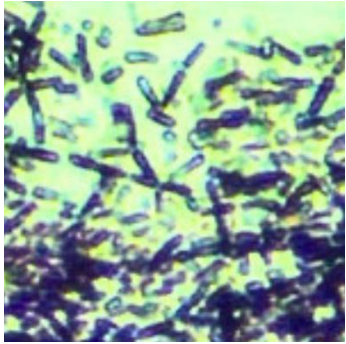
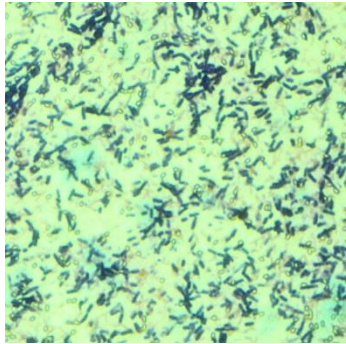
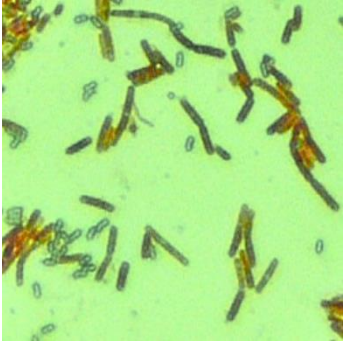
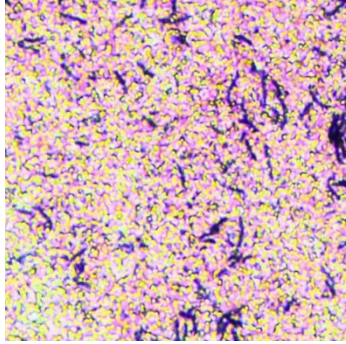
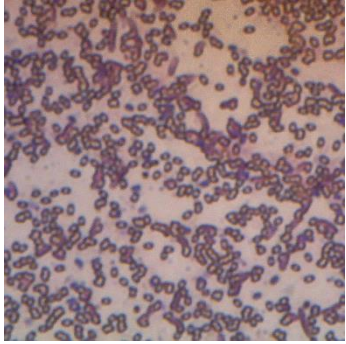
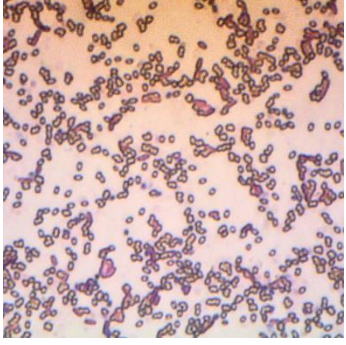
	Konsentrasi (%)	Ulangan			Rata-rata
		1	2	3	
ISTL I 1	100	151	283	124	186
	50	≥300	≥300	≥300	≥300
	25	≥300	–	≥300	≥300
	12,5	214	≥300	≥300	≥300
	6,25	≥300	287	156	≥300
	Kontrol +	0	0	0	0
IST II 3	100	145	102	225	157,3
	50	≥300	≥300	284	≥300
	25	≥300	200	≥300	≥300
	12,5	256	≥300	≥300	≥300
	6,25	71	≥300	≥300	≥300
	Kontrol +	0	0	0	0

Lampiran 5. Gambar Isolat dan Hasil Mikroskopis

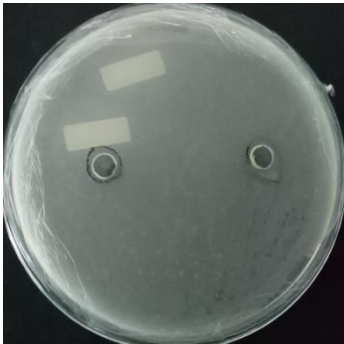
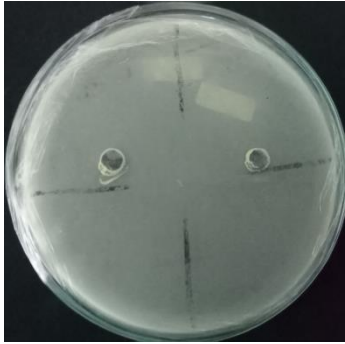
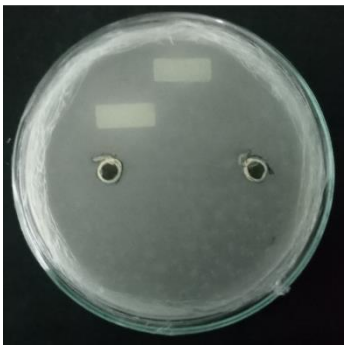
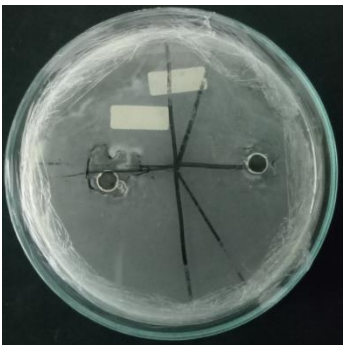
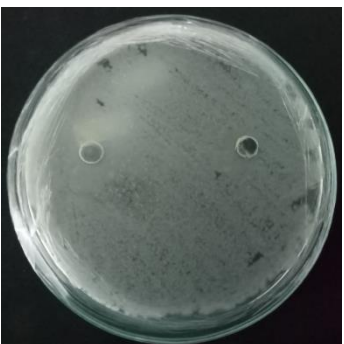
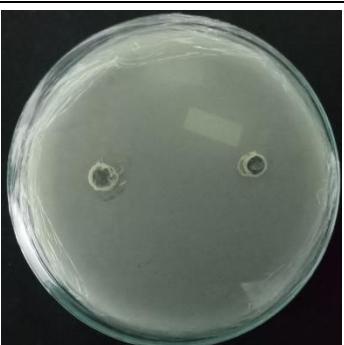
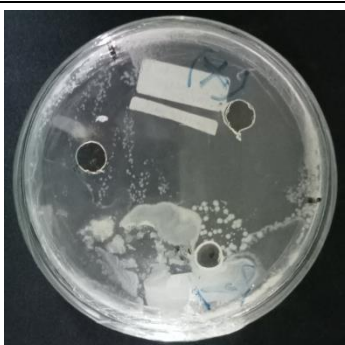
5.1 Gambar Isolat

Kode Isolat	Gambar	Kode Isolat	Gambar
ISTL I 1		IST II 2	
IST I 1		IST II 3	
IST I 2		IST II 4	
IST I 4			

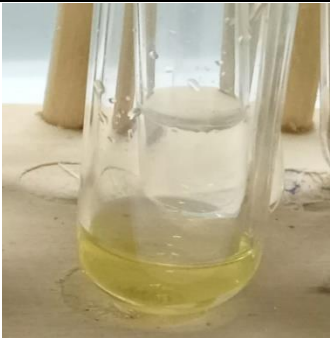
5.2 Hasil Mikroskopis

Kode Isolat	Gambar	Kode Isolat	Gambar
ISTL I 1		IST II 2	
IST I 1		IST II 3	
IST I 2		IST II 4	
IST I 4			

Lampiran 6. Gambar Uji Antibakteri

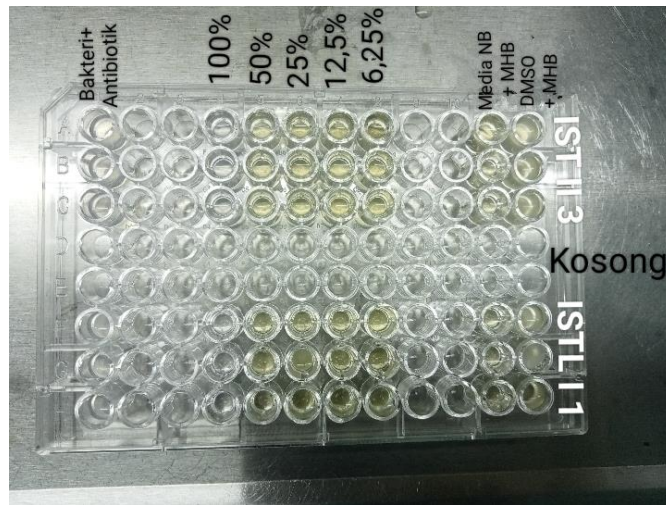
Kode Isolat	Gambar	Kode Isolat	Gambar
ISTL I 1		IST II 2	
IST I 1		IST II 3	
IST I 2		IST II 4	
IST I 4		Kontrol + dan -	

Lampiran 7. Gambar Hasil Uji Fitokimia

Uji Fitokimia	ISTL I 1	IST II 3
Flavonoid		
Alkaloid		
Saponin		
Terpenoid dan Steroid		

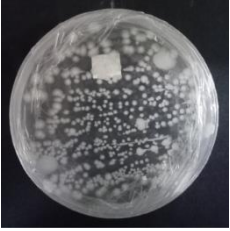
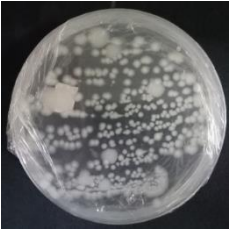
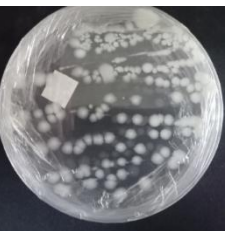
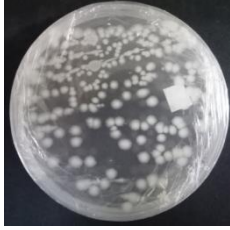
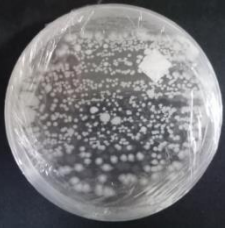
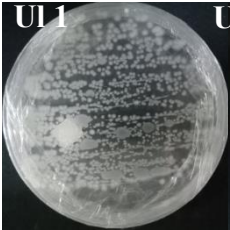
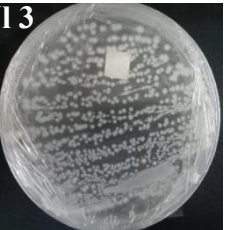
Lampiran 8. Hasil Uji Konsentrasi Hambat dan Bunuh Minimum

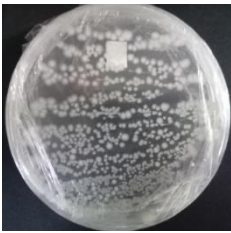
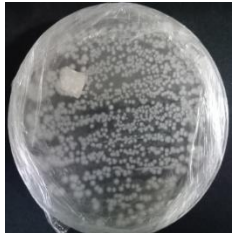
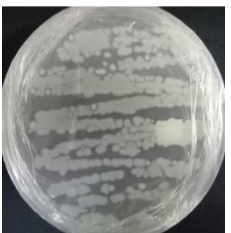
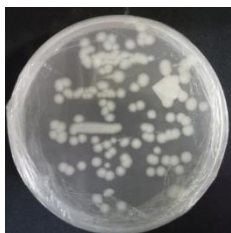
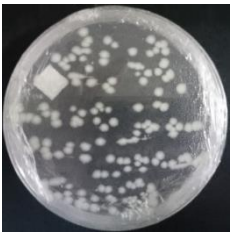
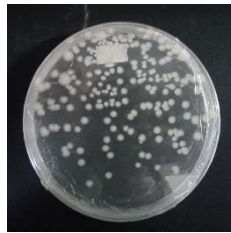
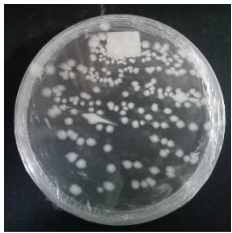
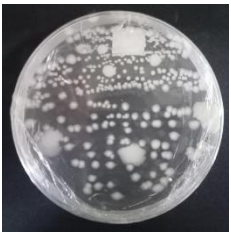
8.1 Hasil KHM (Konsentrasi Hambat Minimum)

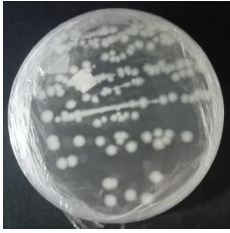
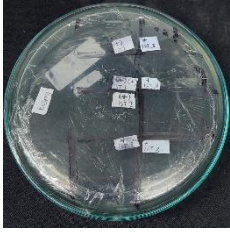


Gambar Hasil Uji KHM (Konsentrasi Hambat Minimum)

8.2 Hasil KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum)

Sampel Uji	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
ISTL I 1 6,25%			
ISTL I 1 12,5%			
ISTL I 1 25%	 		

Sampel uji	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
ISTL I 1 50%			
ISTL I 1 100%			
IST II 3 6,25%			
IST II 3 12,5%			
IST II 3 25%			
IST II 3 50%			

Sampel uji	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
IST II 3 100%			
Kontrol +			

Lampiran 9. Identifikasi MALDI-TOF MS

9.1 Identifikasi Isolat ISTL I 1

BBLK Surabaya
Jalan Karangmenjangan No.18
Surabaya



ISOLATE REPORT: 141NFA-1

RESULTS: Validated

Organism type: bacteria

Selected	Position	Acquisition Date	Results	Confidence	Information
☒	F4	3/28/24 12:54 PM	Bacillus cereus group	99.9%	None

ACTIONS

3/28/24 12:29 PM	LabTech	Setup	VITEK® MS FLEXPREP
3/28/24 12:54 PM	VITEKMSACQ01	Acquire	
3/28/24 1:33 PM	LabTech	Validate	Bacillus cereus group

TRACEABILITY

Slide ID: DS130220241

SYSTEM VERSION

VITEK® MS Software Version: : 1.0.0.46

KB Reference: refkb-full-7.6.0.7

Embedded KB Version: 3.2.0

9.2 Identifikasi Isolat IST II 3

BBLK Surabaya
Jalan Karangmenjangan No.18
Surabaya



ISOLATE REPORT: 140N-1

RESULTS: Validated

Organism type: bacteria

Selected	Position	Acquisition Date	Results	Confidence	Information
	F1	3/28/24 12:53 PM	Enterobacter asburiae	▲ 50.0%	None
✓	F1	3/28/24 12:53 PM	Enterobacter cloacae	▲ 50.0%	None

ACTIONS

3/28/24 12:29 PM	LabTech	Setup	VITEK® MS FLEXPREP
3/28/24 12:53 PM	VITEKMSACQ01	Acquire	
3/28/24 1:33 PM	LabTech	Validate	Enterobacter cloacae

TRACEABILITY

Slide ID: DS130220241

SYSTEM VERSION

VITEK® MS Software Version: : 1.0.0.46

KB Reference: refkb-full-7.6.0.7

Embedded KB Version: 3.2.0



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
Jalan Gajayana Nomor 50, Telepon (0341)551354, Fax: (0341) 572533
Website: <http://www.uin-malang.ac.id> Email: info@uin-malang.ac.id

JURNAL BIMBINGAN SKRIPSI/TESIS/DISERTASI

ENTITAS MAHASISWA

200602110116
APRILIA DWI FATIMAH
SAINS DAN TEKNOLOGI
BIOLOGI
Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R.,M.P.
KIVAH AHA PUTRA,M.Pd.I
ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOFIT DARI RIMPANG TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza*)
SEBAGAI PENGHASIL SENYAWA ANTIBAKTERI TERHADAP *Propionibacterium acnes*

ENTITAS BIMBINGAN

No	Tanggal Bimbingan	Nama Pembimbing	Deskripsi Proses Bimbingan	Tahun Akademik	Status
1	27 September 2023	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R.,M.P.	Pengajuan Judul Skripsi	Ganjil 2023/2024	Sudah Dikoreksi
2	19 Oktober 2023	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R.,M.P.	Bimbingan BAB I	Ganjil 2023/2024	Sudah Dikoreksi
3	09 November 2023	KIVAH AHA PUTRA,M.Pd.I	Bimbingan integrasi ayat Al-Qur'an bab I dan II	Ganjil 2023/2024	Sudah Dikoreksi
4	13 November 2023	KIVAH AHA PUTRA,M.Pd.I	Bimbingan integrasi bab I dan II	Ganjil 2023/2024	Sudah Dikoreksi
5	15 November 2023	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R.,M.P.	Revisi bab I dan bimbingan bab II	Ganjil 2023/2024	Sudah Dikoreksi
6	23 November 2023	KIVAH AHA PUTRA,M.Pd.I	Revisi integrasi ayat Al-Qur'an bab I dan II	Ganjil 2023/2024	Sudah Dikoreksi
7	23 November 2023	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R.,M.P.	Revisi bab I, II, dan III	Ganjil 2023/2024	Sudah Dikoreksi
8	05 Desember 2023	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R.,M.P.	Revisi bab I, II, III	Ganjil 2023/2024	Sudah Dikoreksi
9	07 Desember 2023	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R.,M.P.	Revisi bab I, II, III	Ganjil 2023/2024	Sudah Dikoreksi
10	16 Mei 2024	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R.,M.P.	Bimbingan bab 4	Genap 2023/2024	Sudah Dikoreksi
11	25 Mei 2024	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R.,M.P.	Revisi bab 4	Genap 2023/2024	Sudah Dikoreksi
12	28 Mei 2024	KIVAH AHA PUTRA,M.Pd.I	Bimbingan integrasi ayat Al-Qur'an	Genap 2023/2024	Sudah Dikoreksi
13	30 Mei 2024	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R.,M.P.	Revisi bab IV dan bab V	Genap 2023/2024	Sudah Dikoreksi
14	30 Mei 2024	KIVAH AHA PUTRA,M.Pd.I	Revisi Integrasi ayat Al-Qur'an	Genap 2023/2024	Sudah Dikoreksi

Telah disetujui
Untuk mengajukan ujian Skripsi/Tesis/Desertasi

Dosen Pembimbing 2

KIVAH AHA PUTRA,M.Pd.I

Malang, 3 Juni - 2024.

Dosen Pembimbing 1

Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R.,M.P.

Sistem Informasi Akademik Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang 2.0





KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933
 Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

Form Checklist Plagiasi

Nama : Aprilia Dwi Fatimah
 NIM : 200602110116
 Judul : Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit dari Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes*

No	Tim Check plagiasi	Skor Plagiasi	TTD
1	Azizatur Rohmah, M.Sc		
2	Berry Fakhry Hanifa, M.Sc		
3	Bayu Agung Prahardika, M.Si		
4	Tyas Nyonita Punjungsari, M.Sc		
5	Maharani Retna Duhita, M.Sc., PhD.Med.Sc	25%	

Mengetahui,
 Ketua Program Studi Biologi

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
 NIP. 19741018 200312 2 002

